

A Química nas Áreas Natural, Tecnológica e Sustentável

3

Érica de Melo Azevedo
(Organizadora)



A Química nas Áreas Natural, Tecnológica e Sustentável

3

Érica de Melo Azevedo
(Organizadora)



Editora Chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Assistentes Editoriais

Natalia Oliveira

Bruno Oliveira

Flávia Roberta Barão

Bibliotecário

Maurício Amormino Júnior

Projeto Gráfico e Diagramação

Natália Sandrini de Azevedo

Camila Alves de Cremo

Karine de Lima Wisniewski

Luiza Alves Batista

Maria Alice Pinheiro

Imagens da Capa

Shutterstock

Edição de Arte

Luiza Alves Batista

Revisão

Os Autores

2020 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2020 Os autores

Copyright da Edição © 2020 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

A Atena Editora não se responsabiliza por eventuais mudanças ocorridas nos endereços convencionais ou eletrônicos citados nesta obra.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná

Prof. Dr. Américo Junior Nunes da Silva – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais

Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília

Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Daniel Richard Sant’Ana – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Profª Drª Dilma Antunes Silva – Universidade Federal de São Paulo
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Elson Ferreira Costa – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Jadson Correia de Oliveira – Universidade Católica do Salvador
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Pontifícia Universidade Católica de Campinas
Profª Drª Maria Luzia da Silva Santana – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Profª Drª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília
Prof^ª Dr^ª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof^ª Dr^ª Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves -Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Prof^ª Dr^ª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
Prof^ª Dr^ª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof^ª Dr^ª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof^ª Dr^ª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia
Prof^ª Dr^ª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas
Prof^ª Dr^ª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof^ª Dr^ª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
Prof^ª Dr^ª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados
Prof^ª Dr^ª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino
Prof^ª Dr^ª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora
Prof^ª Dr^ª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^ª Dr^ª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás
Prof^ª Dr^ª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Prof^ª Dra. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Prof^ª Dr^ª Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá

Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Linguística, Letras e Artes

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
Profª Drª Carolina Fernandes da Silva Mandaji – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Conselho Técnico Científico

Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza
Prof. Me. Adalto Moreira Braz – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Dr. Adilson Tadeu Basquerote Silva – Universidade para o Desenvolvimento do Alto Vale do Itajaí
Prof. Me. Alexsandro Teixeira Ribeiro – Centro Universitário Internacional
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Profª Ma. Anne Karynne da Silva Barbosa – Universidade Federal do Maranhão
Profª Drª Andrezza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Profª Drª Andrezza Miguel da Silva – Faculdade da Amazônia
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais
Prof. Me. Armando Dias Duarte – Universidade Federal de Pernambuco
Profª Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar
Profª Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Ma. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo
Profª Drª Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas
Prof. Me. Clécio Danilo Dias da Silva – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Profª Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília
Profª Ma. Daniela Remião de Macedo – Universidade de Lisboa
Profª Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás
Prof. Me. Edevaldo de Castro Monteiro – Embrapa Agrobiologia
Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases
Prof. Me. Eduardo Henrique Ferreira – Faculdade Pitágoras de Londrina

Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Prof. Me. Ernane Rosa Martins – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí
Profª Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora
Prof. Dr. Fabiano Lemos Pereira – Prefeitura Municipal de Macaé
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas
Profª Drª Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
Prof. Me. Gustavo Krahl – Universidade do Oeste de Santa Catarina
Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro
Profª Ma. Isabelle Cerqueira Sousa – Universidade de Fortaleza
Profª Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará
Prof. Dr. José Carlos da Silva Mendes – Instituto de Psicologia Cognitiva, Desenvolvimento Humano e Social
Prof. Me. Jose Elyton Batista dos Santos – Universidade Federal de Sergipe
Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay
Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco
Profª Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás
Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFPA
Prof. Dr. Kárpio Márcio de Siqueira – Universidade do Estado da Bahia
Profª Drª Karina de Araújo Dias – Prefeitura Municipal de Florianópolis
Prof. Dr. Lázaro Castro Silva Nascimento – Laboratório de Fenomenologia & Subjetividade/UFPR
Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Ma. Lillian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará
Profª Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ
Profª Drª Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe
Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados
Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná
Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos
Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior
Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo
Profª Ma. Maria Elanny Damasceno Silva – Universidade Federal do Ceará
Profª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco
Profª Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal

Prof. Me. Robson Lucas Soares da Silva – Universidade Federal da Paraíba
Prof. Me. Sebastião André Barbosa Junior – Universidade Federal Rural de Pernambuco
Profª Ma. Silene Ribeiro Miranda Barbosa – Consultoria Brasileira de Ensino, Pesquisa e Extensão
Profª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo
Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana
Profª Ma. Thatianny Jasmine Castro Martins de Carvalho – Universidade Federal do Piauí
Prof. Me. Tiago Silvio Dedoné – Colégio ECEL Positivo
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Bibliotecário Maurício Amormino Júnior
Diagramação: Camila Alves de Cremona
Edição de Arte: Luiza Alves Batista
Revisão: Os Autores
Organizadora: Érica de Melo Azevedo

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

Q6 A química nas áreas natural, tecnológica e sustentável 3
 [recurso eletrônico] / Organizadora Érica de Melo
 Azevedo. – Ponta Grossa, PR: Atena, 2020.

Formato: PDF

Requisitos de sistemas: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-5706-384-2

DOI 10.22533/at.ed.842201709

1. Química – Pesquisa – Brasil. 2. Tecnologia. 3.
 Sustentabilidade. I. Azevedo, Érica de Melo.

CDD 540

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

Atena Editora

Ponta Grossa – Paraná – Brasil

Telefone: +55 (42) 3323-5493

www.atenaeditora.com.br

contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

A Coleção “A Química nas Áreas Natural, Tecnológica e Sustentável” apresenta artigos de pesquisa na área de química e que envolvem conceitos de sustentabilidade, tecnologia, ensino e ciências naturais. A obra contém 69 artigos, que estão distribuídos em 3 volumes. No volume 1 são apresentados 29 capítulos sobre aplicações e desenvolvimentos de materiais adsorventes sustentáveis e polímeros biodegradáveis; o volume 2 reúne 20 capítulos sobre o desenvolvimento de materiais alternativos para tratamento de água e efluentes e propostas didáticas para ensino das temáticas em questão. No volume 3 estão compilados 20 capítulos que incluem artigos sobre óleos essenciais, produtos naturais e diferentes tipos de combustíveis.

Os objetivos principais da presente coleção são apresentar aos leitores diferentes aspectos das aplicações e pesquisas de química e de suas áreas correlatas no desenvolvimento de tecnologias e materiais que promovam a sustentabilidade e o ensino de química de forma transversal e lúdica.

Os artigos constituintes da coleção podem ser utilizados para o desenvolvimento de projetos de pesquisa, para o ensino dos temas abordados e até mesmo para a atualização do estado da arte nas áreas de adsorventes, polímeros, análise e tratamento de água e efluentes, propostas didáticas para ensino de química, óleos essenciais, produtos naturais e combustíveis.

Após esta apresentação, convido os leitores a apreciarem e consultarem, sempre que necessário, a coleção “A Química nas áreas natural, tecnológica e Sustentável”. Desejo uma excelente leitura!

Érica de Melo Azevedo

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 1

AMIDO HIDROFOBICAMENTE MODIFICADO PARA APLICAÇÃO NA INDÚSTRIA DO PETRÓLEO

Laura Gabriela Gurgel de Carvalho

Bruna Luiza Batista de Lima

Nívia do Nascimento Marques

Marcos Antonio Villetti

Men de Sá Moreira de Souza Filho

Rosângela de Carvalho Balaban

DOI 10.22533/at.ed.8422017091

CAPÍTULO 2..... 12

ANÁLISE DE COMBUSTÍVEIS (GASOLINA COMUM) POR MÉTODOS ELETROANALÍTICOS EM MEIO MICROEMULSIONADO COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE SÃO LUÍS - MA

Lorena Carvalho Martiniano de Azevedo

Leila Maria Santos da Silva

Deracilde Santana da Silva Viégas

Érico June Neves Texeira

Natália Tamires Gaspar Sousa

Aldaléa Lopes Brandes Marques

DOI 10.22533/at.ed.8422017092

CAPÍTULO 3..... 27

ANÁLISE DOS PRODUTOS DE REAÇÃO DA CONDENSAÇÃO ENTRE 2-HIDRÓXI-ACETOFENONA E P-ANISALDEÍDO EM MEIO BÁSICO

Heriberto Rodrigues Bitencourt

Carlos Alberto Beckman de Albuquerque

Antonio Pedro da Silva Souza Filho

Maricelia Lopes dos Anjos

Carla Jacqueline de Almeida Maciel

Jeferson Rodrigo Souza Pina

José Ciriaco Pinheiro

Lady Laura Pantoja Pereira de Carvalho

Andrey Moacir do Rosário Marinho

Ossalín de Almeida

DOI 10.22533/at.ed.8422017093

CAPÍTULO 4..... 35

ANÁLISE TÉRMICA DO POLI (ÁCIDO LÁTICO) COM AGENTES NUCLEANTES: TALCO, PET MICRONIZADO E ARGILA MONTMORILONITA

Alex Melo da Silva

Anderson Maia

Rondes Ferreira da Silva Torin

DOI 10.22533/at.ed.8422017094

CAPÍTULO 5..... 41

APLICAÇÃO DA CFD NO ESTUDO DO EFEITO DO DIÂMETRO DE GOTAS E DO NÍVEL DE ÁGUA NA SEPARAÇÃO GRAVITACIONAL ÁGUA-ÓLEO

Vinícius Gomes Morgan
Daniel da Cunha Ribeiro
Ana Paula Meneguelo
Lucas Henrique Pagoto Deoclecio
Wenna Raissa dos Santos Cruz
Luciana Spinelli Ferreira

DOI 10.22533/at.ed.8422017095

CAPÍTULO 6..... 48

AROMATERAPIA COM ÓLEO YLANG-YLANG (*Cananga odorata*) E PERCEPÇÃO DE BEM-ESTAR EM MULHERES CLIMATÉRICAS

Edna Maria Lemos e Silva Gualberto
Maria da Conceição Ferreira Baia
Claudia Chagas de Pontes
Roseane Rodrigues Siqueira

DOI 10.22533/at.ed.8422017096

CAPÍTULO 7..... 58

DESCOLORAÇÃO FÚNGICA DE CORANTES TÊXTEIS

Mayara Thamela Pessoa Paiva
Fabiana Guillen Moreira Gasparin
Suely Mayumi Obara Doi

DOI 10.22533/at.ed.8422017097

CAPÍTULO 8..... 76

ESTUDO DAS CONDIÇÕES DE PREPARO DO BAGAÇO DE MALTE DE CERVEJARIA NA OBTENÇÃO DE GLICOSE APÓS SUA HIDRÓLISE ÁCIDA

Fernanda Ferreira Freitas
Margarete Martins Pereira Ferreira
Araceli Aparecida Seolatto
Danielle Pires Nogueira
Rodrigo Silva Fontoura

DOI 10.22533/at.ed.8422017098

CAPÍTULO 9..... 89

ESTUDO DA DISTRIBUIÇÃO DO TEMPO DE RESIDÊNCIA EM UM REATOR CONTÍNUO DE TANQUE AGITADO

Thalles de Assis Cardoso Gonçalves
Mayara Mendes Costa
Mariana Oliveira Marques
Hugo Lopes Ferreira
Robson Antônio de Vasconcelos
Vitor Hugo Endlich Fernandes
Mário Luiz Pereira Souza

DOI 10.22533/at.ed.8422017099

CAPÍTULO 10..... 96

ESTUDO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO ÓLEO DE MARACUJÁ (*PASSIFLORA EDULIS*) UTILIZANDO O MÉTODO PETROOXY (ASTMD 7545)

Yguatyara de Luna Machado

Natalia Freitas Oliveira

DOI 10.22533/at.ed.84220170910

CAPÍTULO 11 104

ESTUDO DO COMPORTAMENTO DA GOMA DE LINHAÇA EM MEIO AQUOSO POR ESPALHAMENTO DE LUZ DINÂMICO E REOLOGIA

Laura Gabriela Gurgel de Carvalho

Nívia do Nascimento Marques

Mariana Alves Leite Dutra

Marcos Antonio Villetti

Rosângela de Carvalho Balaban

DOI 10.22533/at.ed.84220170911

CAPÍTULO 12.....113

ESTUDO FITOQUÍMICO, MORFOLÓGICO E AVALIAÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO, DAS FOLHAS DO PAU MOCÓ (*Luetzelburgia auriculata*), QUANTO ÀS ATIVIDADES CONTRA AGENTES VETORIAIS E ANTIOXIDANTE

Antônio Marcelo Alves Lima

Eveline Solon Barreira Cavalcanti

André Castro Carneiro

Lara Pinheiro Xavier

Henety Nascimento Pinheiro

Brício Thiago Pinheiro

DOI 10.22533/at.ed.84220170912

CAPÍTULO 13..... 123

EXPRESSÃO DIFERENCIAL DA SUPERÓXIDO DISMUTASE E CATALASE DURANTE A GERMINAÇÃO DE *Lactuca sativa* L. EXPOSTA A METAIS PESADOS

Antonio Rodrigues da Cunha Neto

Marília Carvalho

Kamilla Pacheco Govêa

Giselle Márcia de Melo

Marília Mendes dos Santos Guaraldo

Heloisa Oliveira dos Santos

Sandro Barbosa

DOI 10.22533/at.ed.84220170913

CAPÍTULO 14..... 134

INCORPORAÇÃO DA ETAPA DE PRÉ-HIDRÓLISE ÁCIDA NO PROCESSO DE OBTENÇÃO DE NANOLÍTER

Danielle Goveia

Vinicius de Jesus Carvalho de Souza

Estefânia Vangelie Ramos Campos

Jose Claudio Caraschi

DOI 10.22533/at.ed.84220170914

CAPÍTULO 15..... 145

MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DE PEQUI (*Caryocar coriaceum*) EM MATRIZ DE ALGINATO/QUITOSANA POR GELIFICAÇÃO IÔNICA: AVALIAÇÃO DA VISCOSIDADE NA MORFOLOGIA DAS PARTÍCULAS

Herllan Vieira de Almeida

Rachel Menezes Castelo

Luana Carvalho da Silva

Maria Leônia da Costa Gonzaga

Pablyana Leila Rodrigues da Cunha

Roselayne Ferro Furtado

DOI 10.22533/at.ed.84220170915

CAPÍTULO 16..... 155

MODELAGEM CINÉTICA DA DESCOLORAÇÃO DO CORANTE CROMOTROPE 2R POR PROCESSOS FENTON MEDIADOS POR FENÓIS DERIVADOS DE LIGNINA

Cássia Sidney Santana

Camila Cristina Vieira Velloso

André Aguiar

DOI 10.22533/at.ed.84220170916

CAPÍTULO 17..... 162

ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM LIMÃO: ESTRATÉGIA PARA A PROTEÇÃO DE SEMENTES E GRÃOS VISANDO A AGRICULTURA ORGÂNICA

Marcela de Souza Alves

Elisabeth Alves Duarte Pereira

Erica Prilips Esposito

Ana Flávia Carvalho da Silva

Emerson Guedes Pontes

Marco Andre Alves de Souza

DOI 10.22533/at.ed.84220170917

CAPÍTULO 18..... 174

OPTIMIZATION SYNTHESIS OF BIODIESEL FROM MACAUBA OIL (*ACROCOMIA ACULEATA*) USING EXPERIMENTAL DESIGN TECHNIQUE

Michelle Budke Costa

Maikon Aparecido Schulz dos Santos

Eduardo Eyng

Juliana Cortez

Daniel Walker Tondo

Laercio Mantovani Frare

Melissa Budke Rodrigues

DOI 10.22533/at.ed.84220170918

CAPÍTULO 19.....	191
PRÉ-TRATAMENTO ÁCIDO EM RAMAS DE MANDIOCA VISANDO PRODUÇÃO DE ETANOL SEGUNDA GERAÇÃO	
Ana Luiza Alves Faria	
Raphael Sarraf Martins Torraca	
Emilia Savioli Lopes	
Jaqueline Costa Martins	
Milena Savioli Lopes	
Melina Savioli Lopes	
DOI 10.22533/at.ed.84220170919	
CAPÍTULO 20.....	197
TEORIA DO ESTADO DE TRANSIÇÃO: DIHYDROAZULENE/VINYLSHEPTAFULVENE	
Andreas Erbs Hillers-Bendtsen	
Magnus Bukhave Johansen	
Kurt V. Mikkelsen	
DOI 10.22533/at.ed.84220170920	
SOBRE A ORGANIZADORA.....	203
ÍNDICE REMISSIVO.....	204

CAPÍTULO 1

AMIDO HIDROFOBICAMENTE MODIFICADO PARA APLICAÇÃO NA INDÚSTRIA DO PETRÓLEO

Data de aceite: 01/09/2020

Data de submissão: 03/06/2020

Laura Gabriela Gurgel de Carvalho

Universidade Federal do Rio Grande do Norte
- LAPET
Natal – Rio Grande do Norte
<http://lattes.cnpq.br/5328364956649842>

Bruna Luiza Batista de Lima

Universidade Federal do Rio Grande do Norte
- LAPET
Natal – Rio Grande do Norte
<http://lattes.cnpq.br/1269987827095427>

Nívia do Nascimento Marques

Universidade Federal do Rio Grande do Norte
- LAPET
Natal – Rio Grande do Norte
<http://lattes.cnpq.br/6620063682882340>

Marcos Antonio Villetti

Universidade Federal de Santa Maria - LEPOL
Santa Maria – Rio Grande do Sul
<http://lattes.cnpq.br/8504489050993642>

Men de Sá Moreira de Souza Filho

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Fortaleza – Ceará
<http://lattes.cnpq.br/4768901375579199>

Rosângela de Carvalho Balaban

Universidade Federal do Rio Grande do Norte
- LAPET
Natal – Rio Grande do Norte
<http://lattes.cnpq.br/7711521318854102>

RESUMO: Amido extraído do caroço de manga foi hidrofobicamente modificado através da transesterificação do laurato de vinila, visando avaliar a sua aplicabilidade em fluidos de perfuração sintéticos como modificador reológico. A caracterização estrutural do produto foi realizada por Espectroscopia de Infravermelho (IV), Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H (RMN ^1H) e Difractometria de Raios X (DRX). O desempenho do produto foi avaliado pelo comportamento reológico de uma emulsão de salmoura em olefina, utilizando o Span80 como emulsificante. A partir do IV, foi possível comprovar a modificação química do amido, através do surgimento da banda em 1743 cm^{-1} , característica de éster saturado. Os espectros de RMN também comprovaram a reação química, pelo desaparecimento dos sinais relativos aos hidrogênios vinílicos. O DRX mostrou que, após a reação, o amido tornou-se amorfo. Por fim, contrário ao amido nativo, o amido modificado apresentou solubilidade em olefina e uma emulsão inversa contendo o laurato de amido teve uma maior viscosidade que a emulsão sem o produto.

PALAVRAS-CHAVE: Amido de manga, laurato de vinila, transesterificação, emulsão inversa, fluido de perfuração sintético.

HYDROFOBICALLY MODIFIED STARCH FOR APPLICATION IN OIL INDUSTRY

ABSTRACT: Starch extracted from mango kernel was hydrophobically modified by transesterification of vinyl laurate, aiming to evaluate its applicability in synthetic drilling fluids

as a rheological modifier. The structural characterization of the product was performed by Infrared Spectroscopy (IR), ^1H Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (^1H NMR) and X-Ray Diffractometry (XRD). The performance of the product was evaluated by the rheological behavior of an emulsion of brine in olefin, using Span80 as an emulsifier. From the FTIR it was possible to confirm the chemical modification of starch, through the appearance of a band at 1743 cm^{-1} , characteristic of a saturated ester. The NMR spectra also proved the chemical reaction, by the disappearance of the signs of vinyl hydrogens. The XRD showed that after reaction starch became amorphous. Finally, unlike native starch, the modified starch showed solubility in olefin and an inverse emulsion containing starch laurate had a higher viscosity than the emulsion without the product.

KEYWORDS: Mango starch, vinyl laurate, transesterification, inverse emulsion, oil drilling fluid.

1 | INTRODUÇÃO

O amido é um dos polissacarídeos mais abundantes do planeta, sendo comumente obtido por fontes como batata, arroz, milho e trigo (KHLESTKIN; PELTEK; KOLCHANOV, 2018; SMITH, 2001). O interesse por novos materiais obtidos a partir de matérias-primas de fontes renováveis, com baixo valor de mercado e de baixo impacto ambiental tem crescido significativamente. Dessa forma, a utilização do amido derivado do caroço de manga Tommy Atkins se constitui em uma proposta bastante interessante sob três principais aspectos: (i) essa variedade de manga é a mais produzida e a que possui a maior participação no volume comercializado no mundo, contribuindo para a geração de grande quantidade de rejeitos descartáveis, como é o caso do caroço das mangas, viabilizando a extração do polímero; (ii) a utilização desses rejeitos na produção de novos materiais contribui para a redução do impacto ambiental provocado pelo descarte de matéria orgânica no meio ambiente, e agrega valor a esse rejeito orgânico; (iii) a utilização de amido de uma fonte não comestível (caroço de manga) aumenta ainda mais as vantagens econômicas e sociais dessa biomassa (CORDEIRO; NUNES; MATTOS; ROSA *et al.*, 2014).

Devido ao avanço das tecnologias envolvidas em perfuração de poços de petróleo, as profundidades alcançadas são cada vez maiores, tornando necessário o uso de fluidos de perfuração sintéticos, que apresentam alta estabilidade e melhor desempenho frente às altas temperaturas e condições encontradas nas rochas, quando comparados aos fluidos aquosos (DIAS; DE SOUZA; LUCAS, 2013; MARQUES; GARCIA; MADRUGA; VILLETTI *et al.*, 2019). Além disso, a escolha de aditivos adequados é fundamental para a obtenção das propriedades desejadas ao fluido formulado.

Polissacarídeos hidrossolúveis, como amido e carboximetilcelulose,

são utilizados em fluidos aquosos e contribuem para o controle de filtrado, além de fornecerem viscosidade ao meio aquoso (CORRÊA; DA CRUZA; VAZ; DE ARAÚJO *et al.*, 2017; MALGARESI; VAZ; CORRÊA; CRUZ *et al.*, 2018). Entretanto, sofrem degradação com aquecimento, empobrecendo as propriedades do fluido. A modificação química das cadeias de polissacarídeos por meio da inserção de cadeias hidrofóbicas pode promover a solubilidade das macromoléculas no meio não-aquoso e aumentar sua estabilidade química (MARQUES; GARCIA; MADRUGA; VILLETTI *et al.*, 2019), levando à produção de fluidos sintéticos com maior controle das propriedades reológicas. Sendo assim, neste trabalho, o amido extraído do caroço da manga foi quimicamente modificado através da reação de transesterificação do laurato de vinila, com o objetivo de verificar a possibilidade de sua aplicação como modificador reológico em fluidos de perfuração sintéticos.

2 | EXPERIMENTAL

2.1 Materiais

Amido foi extraído do caroço de manga (*Mangifera indica L.*, da variedade Tommy Atkins, SISGEN: AD3DC70), de acordo com procedimento descrito previamente na literatura (CORDEIRO; NUNES; MATTOS; ROSA *et al.*, 2014). Laurato de vinila foi fornecido pela Tokyo Kasei. Álcool metílico foi fornecido pela ISOFAR. Dimetilsulfóxido (DMSO) e carbonato de potássio (K_2CO_3) foram fornecidos pela Synth. Hidróxido de sódio (NaOH) foi obtido da Êxodo Científica. Óleo mineral puro (*n*-parafina, grau farmacêutico) foi adquirido no comércio local. Span® 80 foi obtido da Sigma-Aldrich. Todos os materiais foram utilizados sem purificação prévia.

2.2 Síntese do laurato de amido

Foram adicionados 5 g de amido em 50 mL de DMSO, sob agitação magnética constante, durante 24h, à temperatura ambiente ($\sim 25^\circ C$), em um balão de três bocas. Posteriormente, foram adicionados carbonato de potássio (2% em relação à massa de amido) e laurato de vinila (3:1 em mol de unidade monomérica de amido:laurato de vinila) ao sistema, sendo deixados sob agitação mecânica, em atmosfera inerte ($N_{2(g)}$), durante 1 hora. O sistema foi então aquecido a $110^\circ C$, por 3 horas, sob agitação mecânica constante e $N_{2(g)}$. Durante a síntese, o acetaldeído gasoso, subproduto da reação, foi removido do sistema através do seu borbulhamento em solução de NaOH 0,1M (Figura 1).

Após esse período, o sistema foi resfriado e o amido modificado foi recuperado por precipitação em metanol. O produto foi lavado três vezes com metanol, submetido à filtração a vácuo e seco em uma estufa, a $65^\circ C$, durante 24 horas (MARQUES; GARCIA; MADRUGA; VILLETTI *et al.*, 2019).

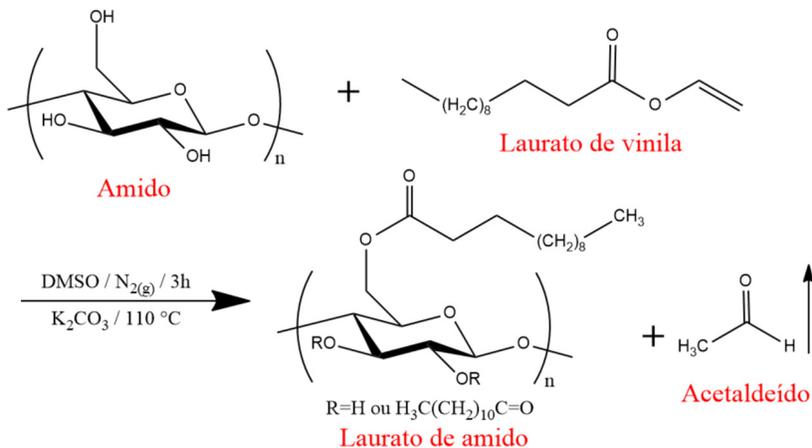


Figura 1- Esquema da reação do laurato de amido

2.3 Espectroscopia na região do infravermelho

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em um espectrômetro de infravermelho por transformada de Fourier da Shimadzu, modelo IRAffinity – 1, acoplado a um módulo HATR MIRacle com prisma de ZnSe da PIKE technologies. As amostras foram analisadas na faixa de 650 a 4000 cm^{-1} .

2.4 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio foram obtidos em um espectrômetro da Bruker, modelo Biospin, de 600 MHz, a uma temperatura de 60 °C. Os espectros foram tratados no programa ACD/NMR Processor Academic Edition. A amostra de amido nativo foi dissolvida em dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d_6) e o produto modificado em clorofórmio deuterado (CDCl_3).

2.5 Determinação do grau de substituição por titulação

O valor do grau de substituição (GS) do laurato de amido foi determinado por titulação, de acordo com o método reportado por Xie e Wang (2011). Em 30 mL de água destilada foram adicionados 15 mL de NaOH 0,5 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. À solução resultante, foram adicionados 1 g de éster de amido ou de amido (usado como branco), seguido de agitação vigorosa, a 30 °C, durante 4 h. O excesso de NaOH foi então titulado com uma solução padrão de HCl 0,1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. As medidas foram feitas em triplicata. O valor de GS do éster de amido foi calculado usando a Equação 1.

$$\text{GS} = 162M(V_0 - V) / 1000W$$

Eq.1

Em que V_0 é o volume em mililitros de solução de HCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ utilizado para titulação do branco (amido), V é o volume em mililitros de solução de HCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ utilizado para titulação do éster de amido, M é a molaridade do HCl usado para a titulação e W é o peso da amostra em gramas como substância seca. 162 representa a massa molar da unidade de D-glucopiranosil do amido.

2.6 Difração de raios-x

As análises de difração de Raios-X (DRX) foram realizadas num difratômetro Bruker D2 Phaser, utilizando radiação CuK α ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$), filtro de Ni, com um passo $0,02^\circ$, corrente de 10 mA e voltagem de 30 KV. Um detector de Lynxeye foi empregado na identificação da estrutura de cristal da amostra. A análise foi realizada no intervalo de ângulo 2θ de 5 a 40 graus.

2.7 Preparação da emulsão inversa

Foi utilizado Span[®] 80 como emulsificante, a uma concentração de 20 g.L^{-1} e laurato de amido como modificador reológico, a uma concentração de $1,71 \text{ g.L}^{-1}$. Como fase dispersa, foi utilizada uma salmoura saturada de NaCl ($35,9 \text{ g}/100 \text{ mL}$, a $25 \text{ }^\circ\text{C}$) numa proporção de 60/40 olefina/salmoura.

Inicialmente, o laurato de amido foi solubilizado na olefina sob agitação magnética constante por 24 horas, em temperatura ambiente ($\sim 25 \text{ }^\circ\text{C}$). Posteriormente, em um Ultra Turrax, modelo t25 digital, da IKA, foi adicionado o Span[®] 80 na olefina contendo o laurato de amido. Após a homogeneização, foi adicionada a salmoura, gota a gota, sob agitação no Turrax, a uma velocidade de 10000 RPM e tempo total de 4 minutos.

2.8 Medidas reológicas

O comportamento de fluxo das emulsões de salmoura em olefina 40/60 (S/O), com e sem laurato de amido, foram realizadas em um reômetro Haake Mars da Thermo, com sensor do tipo cilindros coaxiais e um controlador de temperatura (DC50) acoplado ao equipamento. As medidas foram feitas variando-se a taxa de cisalhamento de $0,1$ a 1000 s^{-1} , a uma temperatura de $49 \text{ }^\circ\text{C}$.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir do espectro na região do infravermelho (Fig. 3), foi possível comprovar a modificação química do amido, através do surgimento da banda em 1743 cm^{-1} , característica de éster saturado, diferente da banda de éster vinílico, em 1758 cm^{-1} , para o laurato de vinila (MULJANA; VAN DER KNOOP; KEIJZER; PICCHIONI *et al.*, 2010). Além disso, outras absorções características podem ser destacadas, como em 3510 cm^{-1} , correspondente à deformação axial dos grupos O-H presentes no polissacarídeo; em 2921 e 2851 cm^{-1} , atribuídas, respectivamente, ao estiramento assimétrico e simétrico da ligação C-H de carbono sp^3 . Ainda, em 1153 cm^{-1}

¹, encontra-se o estiramento da ligação C-O de éster saturado e, em 1013 cm⁻¹, observa-se a banda relativa à deformação axial das ligações C-O de éter (GAO; WANG; YUE; XIONG *et al.*, 2014; MARQUES; GARCIA; MADRUGA; VILLETTI *et al.*, 2019; MONDAL; KARMAKAR; CHATTOPADHYAY; SINGHA, 2019; MULJANA; VAN DER KNOOP; KEIJZER; PICCHIONI *et al.*, 2010; XIE; WANG, 2011).

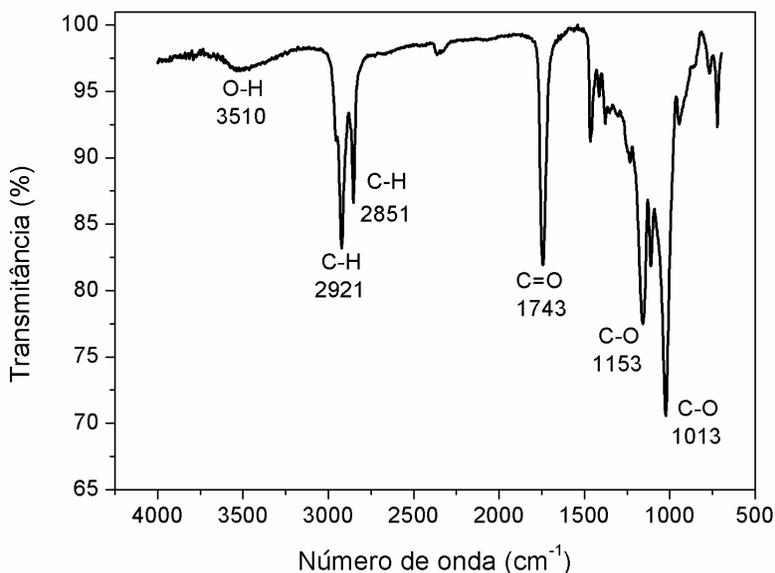


Figura 3 - Espectro na região do infravermelho para o laurato de amido.

A Fig. 4a apresenta o espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio para o laurato de vinila. Em 0,79 ppm, observa-se o pico referente à metila terminal (H-a). Os sinais a 1,59 ppm e 2,37 ppm são devidos aos hidrogênios metílicos H-j e H-k, respectivamente. Outros hidrogênios dos grupos metileno (H-b-i) apareceram sobrepostos a 1,27 ppm. Os picos a 4,55 ppm e 4,87 ppm podem ser atribuídos aos hidrogênios terminais vinílicos (H-m e H-n), enquanto que o hidrogênio vinílico (H-l) está, provavelmente, superposto com sinal de solvente, em 7,27 ppm (MARQUES; GARCIA; MADRUGA; VILLETTI *et al.*, 2019).

Os hidrogênios referentes à unidade de glicose do amido e do amido modificado aparecem nos espectros de RMN ¹H entre 3,0 e 5,8 ppm. Para o amido nativo (Fig. 4b), o deslocamento a 3,22 ppm é referente ao hidrogênio 2, o sinal em 3,35 ppm é relativo ao hidrogênio 4, o sinal em 3,37 ppm pode ser atribuído ao hidrogênio 5, em 3,62 ppm encontra-se o hidrogênio 6 e o deslocamento em 3,69 ppm faz referência ao hidrogênio 3. Em 4,41 ppm encontra-se o sinal referente ao

hidrogênio do carbono anomérico, hidrogênio 1 da ligação α 1 \rightarrow 6. E, por fim, na região de 5,0 - 5,6 encontra-se o hidrogênio 1, do carbono anomérico, da ligação α 1 \rightarrow 4 (MONDAL; KARMAKAR; CHATTOPADHYAY; SINGHA, 2019; MULJANA; VAN DER KNOOP; KEIJZER; PICCHIONI *et al.*, 2010).

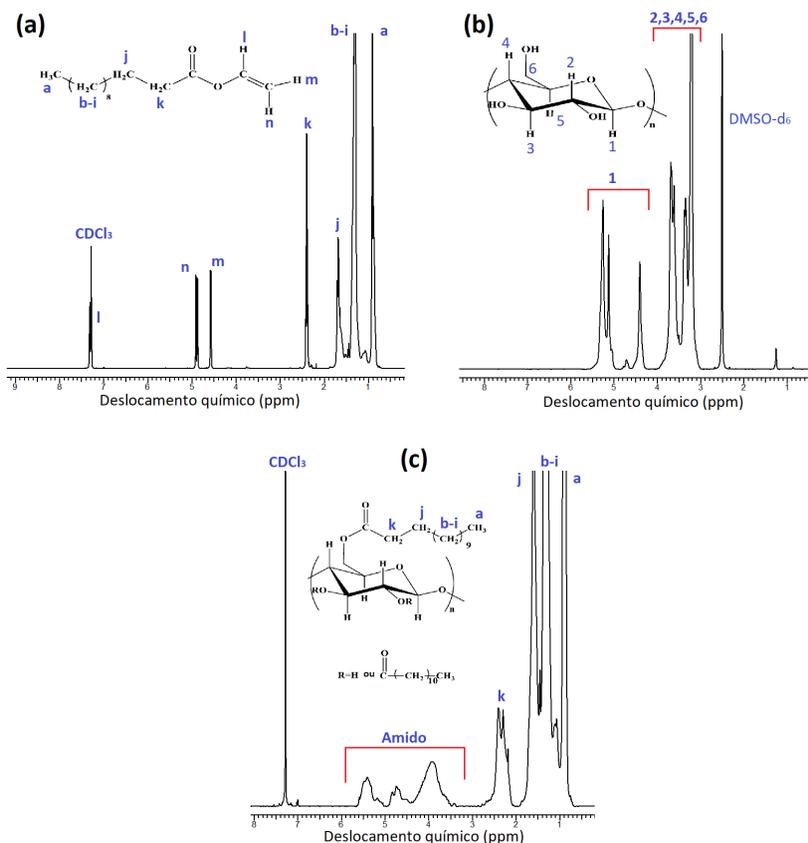


Figura 4 - Espectros de RMN ^1H para (a) laurato de vinila, (b) amido e (c) laurato de amido.

Para o espectro do laurato de vinila (Fig. 4c), o sinal na região 0,79 - 1,0 ppm pode ser atribuído à metila terminal (H-a) da cadeia de laurato. O sinal em 1,7-1,43 ppm corresponde aos hidrogênios metilênicos (H-b-i) da cadeia alifática do laurato. Ainda, o sinal em 1,6 ppm pode ser atribuído ao hidrogênio H-j e o sinal em 2,35 ppm ao hidrogênio H-k. Na faixa de 3,36-5,56 encontram-se os hidrogênios relativos ao amido (MARQUES; GARCIA; MADRUGA; VILLETTI *et al.*, 2019; MULJANA; VAN DER KNOOP; KEIJZER; PICCHIONI *et al.*, 2010). A inserção das cadeias hidrofóbicas pode ser comprovada através do desaparecimento dos hidrogênios

vinílicos do laurato de vinila (H-n e H-m) e do deslocamento da faixa dos hidrogênios do amido de 3,0 ppm para 3,36 ppm, o que evidencia a mudança de ambiente químico na macromolécula, que é ocasionado pela modificação química do amido nativo.

A determinação do grau de substituição (GS) do éster de amido ocorreu por titulação, a partir da hidrólise do éster com uso de base forte (NaOH), conforme ilustrado na Figura 5. A hidroxila (-OH) funciona como nucleófilo, atacando carbono da carbonila (pertencente ao éster de amido), uma das ligações carbono-oxigênio (da carbonila) é rompida e o par eletrônico passa para o oxigênio. Em seguida, a ligação dupla se refaz e uma ligação carbono-oxigênio ligado a um radical é rompida formando o álcool e um sal de ácido graxo. Assim quando o laurato de amido foi saponificado com íon hidróxido ocorreu a formação de laurato de sódio, reestabelecendo, dessa maneira, frações monoméricas do amido, como na reação ilustrada na Figura 5.

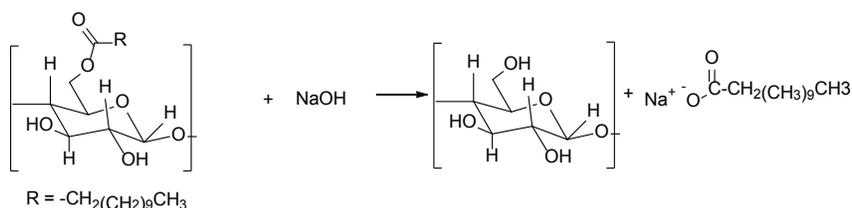


Figura 5 - Reação de hidrólise alcalina do éster de amido.

Como essa reação é baseada na adição de uma base forte, foi possível determinar a quantidade de base necessária para hidrolisar o éster da amostra através da titulação do laurato de sódio com ácido clorídrico, o qual forneceu um grau de substituição de 2,4. Esse valor é similar a resultados já encontrados na literatura que utilizam condições de síntese similares às realizadas neste trabalho (XIE; WANG, 2011; WINKLER; VORWERG; WETZEL, 2013;).

O amido possui grânulos semi-cristalinos, com polimorfismo e graus de cristalinidade variados. No Padrão de DRX do amido nativo (Fig. 6), os fortes reflexos (2θ) foram encontrados em cerca de 15°, 17°, 18° e 23°, e um pico de baixa intensidade nas proximidades de 26°, o que indica que o amido de manga nativo exibiu uma cristalinidade típica do padrão tipo A (GAO; WANG; YUE; XIONG *et al.*, 2014). No entanto, após modificação química, o éster de amido só apresentou um pico amplo dispersivo, correspondente a um material amorfo. O desaparecimento dos picos do amido mostrou que os domínios cristalinos foram desfeitos pela reação de transesterificação (XIE; WANG, 2011).

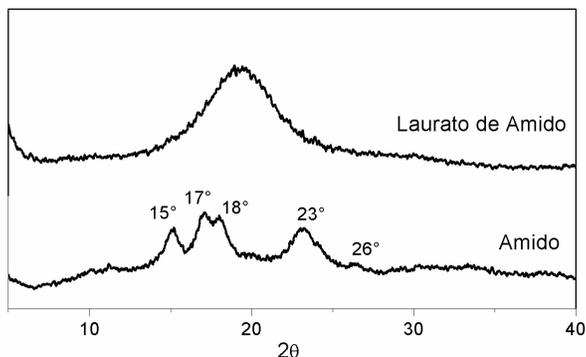


Figura 6 - Difratograma de Raios-X para o laurato de amido e o amido

A introdução de cadeias alifáticas longas (C12) tornou o amido insolúvel em solventes polares, como água e DMSO e solúvel em solventes apolares, como óleo mineral, clorofórmio e tolueno. Assim, as curvas reológicas foram realizadas em uma emulsão de salmoura em olefina, apresentada na Fig. 7. Houve uma significativa diminuição da viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento, característica de fluidos pseudoplásticos (MARQUES; LIMA; SILVEIRA; LIMA *et al.*, 2016). Além disso, a presença das cadeias do laurato de amido na emulsão inversa ocasionou um incremento de viscosidade se comparado com a emulsão pura, a baixas taxas de cisalhamento, indicando que o produto obtido pode ser aplicado como modificador reológico em fluidos de perfuração sintéticos.

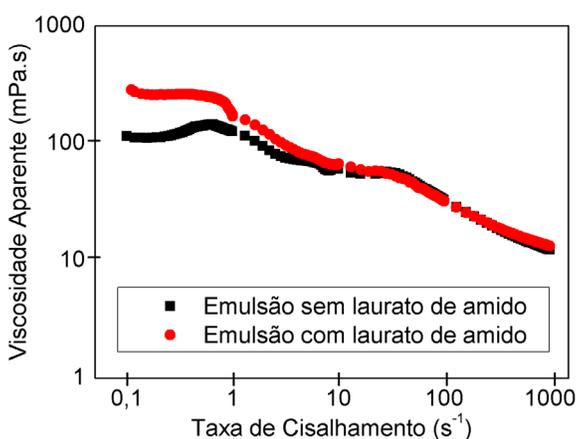


Figura 7 - Curvas de viscosidade aparente em função da taxa de cisalhamento para emulsão de salmoura em olefina com e sem o laurato de amido. Concentração de polímero de 1,71 g/L, T = 49 °C.

4 | CONCLUSÕES

A modificação química do amido de manga foi realizada com sucesso. Através do espectro na região do infravermelho, foi possível identificar o aparecimento de banda de carbonila de éster saturado, diferente do laurato de vinila, que possui banda de éster vinílico. Através dos espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio, foi possível identificar os deslocamentos químicos do amido e do laurato de vinila no produto modificado: o sinal dos hidrogênios relativos ao amido foi deslocado e os prótons vinílicos do laurato de vinila desapareceram após a reação de transesterificação. De acordo com o DRX, após a reação química, a cristalinidade do amido foi perdida, resultando em um material amorfo. Com a inserção de cadeias hidrofóbicas, o produto resultante apresentou solubilidade em solventes apolares. A adição do laurato de amido à uma emulsão inversa promoveu aumento da sua viscosidade aparente, o que o torna uma interessante alternativa como modificador reológico em fluidos de perfuração sintéticos.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Os autores também agradecem ao apoio financeiro da PETROBRAS e da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 02.14.04.002.00.00).

REFERÊNCIAS

- CORDEIRO, E. M. S.; NUNES, Y. L.; MATTOS, A. L. A.; ROSA, M. F. *et al.* Polymer biocomposites and nanobiocomposites obtained from mango seeds. **Macromolecular Symposia**, 344, n. 1, p. 39-54, 2014. Article.
- CORRÊA, C. C.; DA CRUZA, G. F.; VAZ, A. S. L., JR.; DE ARAÚJO, B. S. A. *et al.* Use potential of bioglycerin as a basis for aqueous drilling fluids formulation of oil and gas wells. **Química Nova**, 40, n. 4, p. 378-387, 2017. Article.
- DIAS, F.; DE SOUZA, R.; LUCAS, E. Starch fatty esters for potential use in petroleum industry. **Chemistry and Chemical Technology**, 7, n. 4, p. 451-456, 2013. Article.
- GAO, Y.; WANG, L.; YUE, X.; XIONG, G. *et al.* Physicochemical properties of lipase-catalyzed laurylation of corn starch. **Starch/Staerke**, 66, n. 5-6, p. 450-456, 2014. Article.
- KHLESTKIN, V. K.; PELTEK, S. E.; KOLCHANOV, N. A. Review of direct chemical and biochemical transformations of starch. **Carbohydrate Polymers**, 181, p. 460-476, 2018. Review.

MALGARESI, G. V. C.; VAZ, A. S. L., JR.; CORRÊA, C. C.; CRUZ, G. F. *et al.* A new crude-glycerin-based drilling fluid. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, 160, p. 401-411, 2018. Article.

MARQUES, N. D. N.; GARCIA, C. S. D. N.; MADRUGA, L. Y. C.; VILLETTI, M. A. *et al.* Turning industrial waste into a valuable bioproduct: Starch from mango kernel derivative to oil industry mango starch derivative in oil industry. **Journal of Renewable Materials**, 7, n. 2, p. 139-152, 2019. Article.

MARQUES, N. N.; LIMA, B. V.; SILVEIRA, V. R.; LIMA, B. L. B. *et al.* PNIPAM-based graft copolymers prepared using potassium persulfate as free-radical initiator: synthesis reproducibility. **Colloid and Polymer Science**, 294, n. 6, p. 981-991, 2016. Article.

MONDAL, H.; KARMAKAR, M.; CHATTOPADHYAY, P. K.; SINGHA, N. R. Starch-g-tetrapolymer hydrogel via in situ attached monomers for removals of Bi(III) and/or Hg(II) and dye(s): RSM-based optimization. **Carbohydrate Polymers**, 213, p. 428-440, 2019. Article.

MULJANA, H.; VAN DER KNOOP, S.; KEIJZER, D.; PICCHIONI, F. *et al.* Synthesis of fatty acid starch esters in supercritical carbon dioxide. **Carbohydrate Polymers**, 82, n. 2, p. 346-354, 2010. Article.

SMITH, A. M. The biosynthesis of starch granules. **Biomacromolecules**, 2, n. 2, p. 335-341, 2001. Review.

XIE, W.; WANG, Y. Synthesis of high fatty acid starch esters with 1-butyl-3-methylimidazolium chloride as a reaction medium. **Starch/Starke**, 63, n. 4, p. 190-197, 2011. Article.

CAPÍTULO 2

ANÁLISE DE COMBUSTÍVEIS (GASOLINA COMUM) POR MÉTODOS ELETROANALÍTICOS EM MEIO MICROEMULSIONADO COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE SÃO LUÍS - MA

Data de aceite: 01/09/2020

Data de submissão: 05/06/2020

Lorena Carvalho Martiniano de Azevedo

Universidade Federal do Maranhão-UFMA
Campus Bacanga
<http://lattes.cnpq.br/8536193616269377>

Leila Maria Santos da Silva

Universidade Federal do Maranhão - UFMA
São Luís – MA
<http://lattes.cnpq.br/6277677816402902>

Deracilde Santana da Silva Viégas

Universidade Federal do Maranhão - UFMA
São Luís – MA
<http://lattes.cnpq.br/5345949888760079>

Érico June Neves Texeira

Universidade Federal do Maranhão - UFMA
São Luís – MA
<http://lattes.cnpq.br/4958269178279199>

Natália Tamires Gaspar Sousa

Universidade Federal do Maranhão - UFMA
São Luís – MA
<http://lattes.cnpq.br/4344073392731325>

Aldaléa Lopes Brandes Marques

Universidade Federal do Maranhão-UFMA
Campus Bacanga
São Luís – MA
<http://lattes.cnpq.br/0121030502015990>

RESUMO: Este trabalho apresenta o estudo para determinação de chumbo, preparado ex

situ, em microemulsão de gasolina por técnicas voltamétricas, empregando um eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de mercúrio. A técnica estudada foi Voltametria de Redissolução por Pulso Diferencial, otimizando os seguintes parâmetros: Potencial de Deposição; Tempo de pré-concentração; Velocidade de Varredura e Amplitude de Pulso. Foi possível avaliar uma faixa de concentração de 10^{-8} mol L^{-1} de Pb (II) analisando vários parâmetros com o objetivo de se obter condições ideais em termos de sensibilidade. Com a técnica avaliada obteve-se um limite de quantificação (LQ) de $5,18 \times 10^{-8}$ mol. L^{-1} e limite de detecção (LD) de $1,55 \times 10^{-8}$ mol. L^{-1} .

PALAVRAS-CHAVE: Microemulsão, Combustíveis, Métodos Eletroanalíticos.

FUEL ANALYSIS (COMMON GASOLINE) BY ELECTROANALYTIC METHODS IN MICROEMULSIONED MEDIA MARKETED IN THE CITY OF SÃO LUÍS - MA

ABSTRACT: This work presents the study for determining lead, prepared ex situ, in gasoline microemulsion by voltammetric techniques, using a glassy carbon electrode modified with mercury film. The technique studied was Differential Pulse Redissolution Voltammetry, optimizing the following parameters: Deposition Potential; Pre-concentration time; Sweep speed and pulse amplitude. It was possible to evaluate a concentration range of 10^{-8} mol L^{-1} of Pb (II) by analyzing several parameters in order to obtain ideal conditions in terms of sensitivity. With the evaluated technique, a quantification limit (LQ) of

$5.18 \times 10^{-8} \text{ mol.L}^{-1}$ and detection limit (LD) of $1.55 \times 10^{-8} \text{ mol.L}^{-1}$ were obtained

KEYWORDS: Microemulsion, Fuels, Electroanalytical Methods.

1 | INTRODUÇÃO

Devido a necessidade de se reduzir emissões indesejáveis e a busca por melhor desempenho nos motores veio aumentar o interesse dos pesquisadores por combustíveis menos poluentes como os biocombustíveis, em destaque o etanol e biodiesel. Estes combustíveis podem ser usados em misturas com a gasolina e com o diesel mineral (FERNANDES, 2011).

O uso destes biocombustíveis traz consigo o potencial de serem renováveis e biodegradáveis, pois eles são, na maioria das vezes, obtidos de origem vegetal e as emissões de dióxidos de carbono são absorvidas pelas plantas, reduzindo, assim, os efeitos desse gás sobre o aquecimento global.

A determinação de metais em combustíveis é um assunto de relevância ambiental por considerar as emissões veiculares como umas das fontes mais comuns de metais pesados no ambiente (SAINT'PIERRE et al., 2002; SOUSA et al., 2008). A reatividade destes elementos implica diretamente na qualidade dos combustíveis, onde a presença de metais está relacionada com a decomposição, baixo desempenho do combustível, corrosão do motor e formação de precipitados (AUCELIO et al, 2004).

Na gasolina, os elementos metálicos estão normalmente presentes em baixas concentrações, requerendo técnicas sensíveis e procedimentos de pré-concentração para determinação dos mesmos. Com a utilização de técnicas analíticas é difícil a análise direta da gasolina devido sua volatilidade, baixa viscosidade, corrosividade e imiscibilidade com a água. Portanto, algumas estratégias analíticas são utilizadas em análise de combustíveis e bicombustíveis, principalmente em relação ao preparo da amostra por se tratarem de amostras bastante complexas. Dentre as principais formas de preparo de amostras utilizadas para esta finalidade estão a digestão da amostra (método tradicional ou micro-ondas), diluição da amostra (em solvente adequado) ou amostra micro emulsionado (MARQUES, et al., 2012).

Dentre os contaminantes ambientais mais comuns, o chumbo se destaca, devido a sua ampla utilização industrial, onde podemos estacar a indústria petrolífera, extrativa, de acumuladores, de tintas e corantes, cerâmica, gráfica e bélica, possuindo efeitos extremamente tóxicos e nenhuma função já identificada no organismo (MOREIRA et al., 2002). Em grandes concentrações, estes metais podem afetar o processo e o sistema econômico do combustível. A determinação desses elementos é, portanto, um assunto de grande interesse, tanto pela relevância ambiental por considerar as emissões veiculares, como também por ser uma das

fontes mais comuns de metais pesados no ambiente.

Dessa forma, o presente trabalho propõe a análise eletroanalítica de combustíveis (gasolina comum) comercializadas na cidade de São Luís - MA em meio microemulsionado, utilizando eletrodo quimicamente modificado com filme de mercúrio.

2 | METODOLOGIA

Os procedimentos a serem aplicados, serão aqueles comumente mostrados na literatura (MARTINIANO, 2009; MARQUES, et. al, 2012, TRINDADE, et. al, 2012; FERREIRA, 2006; MARTINIANO, et. al., 2013; MARTINIANO, et. al., 2013) e objetivam a realização de experimentos estáveis e que obedeçam equações e princípios de importância em aplicações analíticas.

2.1 Parte Experimental

As medidas voltamétricas foram realizadas em um potenciostato voltamétrico BAS, modelo CV-50W interfaceado a um computador para registro dos dados. Os experimentos eletroquímicos foram realizados em células de vidro pirex com compartimento para três eletrodos. Todos os reagentes usados foram de pureza analítica P.A. e a água utilizada no preparo de solução e na limpeza dos materiais de laboratório utilizada foi destilada e posteriormente purificada em um sistema NANOPURE modelo 04741 (BARNSTEAD).

Soluções estoque contendo 1000 mg L^{-1} de Pb^{2+} e Hg^{2+} foram preparadas pela diluição de ampolas Titrisol de procedência Merck. Cloreto de Lítio (LiCl) de $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, ácido clorídrico, ácido nítrico, álcool propanol, ácido acético e acetato de sódio, todos de procedência Merck ou Quimis, foram utilizados para as medições. A desaeração das soluções (retirada do O_2) nas medidas voltamétricas foram realizadas empregando-se o gás nitrogênio (WHITE MARTINS- supraseco) durante 10 minutos.

2.1.1 Soluções

As soluções padrão do metal Pb, com concentração de 1000 mg L^{-1} , de procedência Merck, foram utilizadas como solução estoque. As demais soluções padrões foram preparadas a partir de diluições destas soluções estoque. A solução de hidróxido de sódio foi preparada na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, em propan-1-ol. Esta solução foi usada para ajustar o pH da microemulsão usada na determinação do metal, para que a mesma se tornasse mais estável.

A solução de cloreto de lítio $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada pesando-se $0,042 \text{ g}$ do reagente e dissolvendo-o em água ultra-purificada para o preparo de

100 mL de solução. Esta solução foi utilizada no preparo do eletrodo de filme de mercúrio (EFM). O preparo do EFM foi utilizado uma solução padrão de $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ com concentração em íons mercúrio de 1000 mg.L^{-1} .

2.1.2 Preparação do Eletrodo de Filme de Mercúrio Ex Situ

A deposição eletroquímica do filme de mercúrio foi realizada adicionando $80 \mu\text{L}$ de solução padrão de $\text{Hg}(\text{II})$ 1000 mg.L^{-1} diluída a um volume final de 10 mL com uma solução de LiCl $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, resultando em uma solução de concentração final de $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em íons $\text{Hg}(\text{II})$.

Após esta etapa a solução foi deaerada com nitrogênio durante 20 minutos para remoção do oxigênio molecular e em seguida um potencial de deposição de -900 mV foi aplicado ao sistema por 10 minutos com uma sensibilidade de $10 \mu\text{A}$.

Após formação do filme, o eletrodo foi lavado cuidadosamente com água deionizada e imediatamente usado em outra célula contendo a microemulsão: uma mistura de ácido nítrico e propan-1-ol, para ser feita a deposição do chumbo no filme de mercúrio. A cada análise, o EFM tem que ser preparado.

2.1.3 Preparo da Gasolina Comum em Meio Microemulsionado

Uma mistura de três componentes (gasolina: propan-1-ol: ácido nítrico) será utilizada para o preparo da gasolina em meio microemulsionado de acordo com literatura (MARTINIANO, 2009) que foi avaliada por técnicas eletroanalíticas. Para o preparo do meio foram utilizados como reagentes: ácido nítrico (PA e suprapuro), propan-1-ol e gasolina. O meio foi preparado misturando-se $5,0 \text{ mL}$ de gasolina com $1,0 \text{ mL}$ de ácido nítrico concentrado, deixando-se sob agitação máxima por cinco minutos. Em seguida, adicionou-se 12 mL de propan-1-ol, sob agitação leve; após alguns minutos, acrescentou-se 2 mL de água ultra-pura de forma lenta e sob agitação leve e constante (Martiniano, 2009).

2.1.4 Otimização das Condições Experimentais

Antes de se proceder a determinação do íon metálico $\text{Pb}(\text{II})$ vários parâmetros foram otimizados, a fim de se obter condições ideais para o EFM, em termos de sensibilidade. Para isto, um parâmetro foi variado por vez, enquanto os demais foram fixados. Alguns fatores são considerados de maior importância na influência do sinal analítico. Com isso, os seguintes parâmetros foram escolhidos e otimizados: tempo de pré-concentração ($t_{\text{pré}}$), potencial de deposição (E_{dep}), velocidade de varredura (v), amplitude (Amp) e tempo de equilíbrio (s).

2.1.5 Validação dos Métodos Eletroanalíticos

A validação dos procedimentos analíticos propostos nesta pesquisa foi feita com base nos seguintes parâmetros estatísticos: linearidade, sensibilidade, precisão (coeficiente de variação com base no desvio padrão, repetitividade, precisão intermediária, reprodutibilidade), limite de detecção, limite de quantificação, exatidão (recuperação).

Os parâmetros utilizados para a validação são selecionados a partir dos objetivos do novo método proposto. Diversos critérios de validação de um método são discutidos na literatura, dentre os quais, destaca-se alguns, conforme apresentados a seguir (LEITE, 1996).

2.1.6 Análise Estatística

Para a análise estatística, será utilizado o cálculo das médias (\bar{x}), desvio padrão (SD) e coeficiente de variância (CV). Através do programa Origin 6.0 os dados coletados foram tratados estatisticamente e apresentados em forma de gráficos e tabelas.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Otimização das Condições Experimentais para o Chumbo utilizando a técnica de Voltametria de Redissolução Anódica por Pulso Diferencial

Os parâmetros considerados mais importantes foram estudados e otimizados pela técnica de voltametria de redissolução anódica por pulso diferencial, com o objetivo de obter melhores condições para a determinação do íon metálico Pb (II).

3.1.1 Potencial de deposição

Para avaliar o melhor potencial de deposição foi necessário estudar a influência do potencial de deposição na faixa de -0,6 a -1,0 V, avaliando-se as correntes de pico anódica para o analito. Esse estudo foi realizado com uma solução padrão de Pb (II) de concentração igual a $4,83 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma mistura contendo propan-1-ol e ácido nítrico. Os resultados da otimização do potencial de deposição, neste meio, são apresentados na Figura 1.

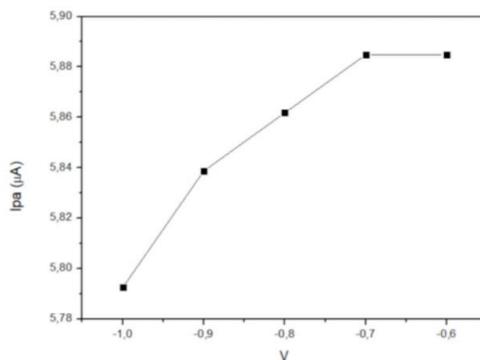


Figura 1: Efeito do potencial de deposição sobre a corrente de pico para a determinação de Pb (II). Dados obtidos a partir da resposta voltamétrica íon Pb (II) em 10mL da solução eletrolítica (3,6mL de HNO_3 1×10^{-2} mol L⁻¹; 6,4 mL de propano-1-ol) utilizando VRAPD. E_{dep} (V): -0,6 -0,7 -0,8 -0,9 e -1,0; $t_{\text{pré}}$: 8 min; t_{eq} (s): 15; Amp: 0,05 V; v : 0,03 Vs⁻¹.

Com base nestes resultados, observou-se que a corrente de pico exibe uma dependência do potencial de deposição, apresentando uma maior sensibilidade (maior intensidade de corrente) para Pb (II) em um potencial de deposição igual a -0,6 V quando aplicado ao sistema. Sendo assim, este potencial foi escolhido como melhor potencial de deposição para a determinação do metal.

3.1.2 Estudo do tempo de pré-concentração

A Figura 2 apresenta a influência do tempo de pré-concentração sobre a corrente de pico, para uma concentração de Pb (II) $4,83 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, usando o EFM.

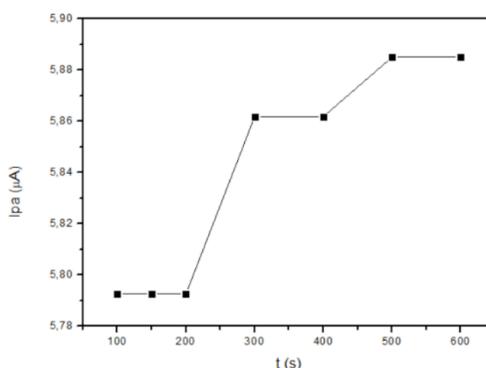


Figura 2: Estudo do tempo de pré-concentração para determinação de Pb (II). Dados obtidos a partir da resposta voltamétrica íon Pb (II) em 10mL da solução eletrolítica (3,6mL de HNO_3 1×10^{-2} mol L⁻¹; 6,4 mL de propano-1-ol) utilizando VRAPD. E_{dep} : -0,6 V; $t_{\text{pré}}$: 100, 150, 200, 300, 400 e 500s.; t_{eq} (s): 15; Amp: 0,05 V; v : 0,03V.s⁻¹.

De acordo com a Figura 2, observou-se que a partir do tempo de 400 segundos houve uma saturação do eletrodo. Com base nisso, um tempo de 300 segundos foi escolhido, porque oferece uma maior janela de concentração para a curva analítica, impedindo, assim, sua saturação.

3.1.3 Velocidade de varredura

A influência da velocidade de varredura na corrente de pico anódica do sistema foi estudada a partir de uma concentração de Pb (II) igual a $4,83 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em uma mistura de propano-1-ol e ácido nítrico (nas mesmas proporções do preparo da microemulsão, não utilizando a amostra de gasolina).

Para a avaliação do estudo da velocidade de varredura foram analisados os seguintes valores: 0,01, 0,02, 0,03, 0,04 e 0,05 V.s^{-1} . Os resultados encontrados são apresentados na Figura 3.

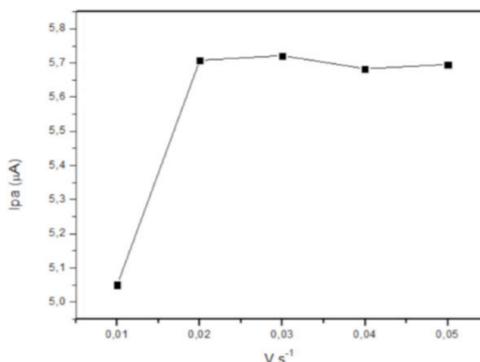


Figura 3: Estudo da velocidade de varredura para determinação de Pb(II). Dados obtidos a partir da resposta voltamétrica íon Pb (II) em 10mL da solução eletrolítica (3,6mL de HNO_3 $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$; 6,4 mL de propano-1-ol) utilizando VRAPD. Edep: -0,6 V; tpré: 8 min; t_{eq} (s): 15; Amp.: 0,05 V; v: 0,01 0,02 0,03 0,04 e 0,05 V.s^{-1} .

De acordo com a Figura 3, pode-se destacar que a velocidade de varredura igual a $0,03 \text{ V.s}^{-1}$ é a mais apropriada, pois apresenta melhor sensibilidade. A partir dos experimentos realizados observou-se que este valor de velocidade também proporciona boa resolução dos picos.

3.1.4 Amplitude de Pulso

Um dos parâmetros utilizados para se aumentar a sensibilidade do meio é a amplitude. Foram analisados os seguintes valores de amplitude de pulso: 0,025, 0,05, 0,1 e 0,15 V. A Figura 4 apresenta os resultados da influência da amplitude de pulso em relação à corrente de pico anódica.

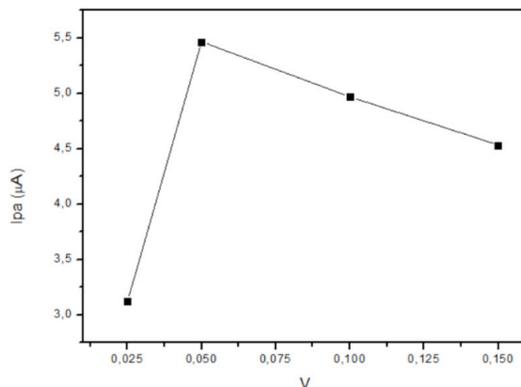


Figura 4: Estudo da amplitude de pulso para determinação de Pb (II). Dados obtidos a partir da resposta voltamétrica ion Pb (II) em 10mL da solução eletrolítica (3,6mL de HNO_3 1×10^{-2} mol L^{-1} ; 6,4 mL de propano-1-ol) utilizando VRAPD. Edep: -0,6 V; tpré:8 min; t_{eq} (s): 15; v: 0,03V.s $^{-1}$; Amp.: 0,025, 0,05, 0,1 e 0,15 V.

Com base nos resultados, observou-se uma melhor resolução dos picos utilizando um valor de amplitude de 0,05 V, desta forma, escolheu-se este valor como o mais apropriado.

Após o estudo de otimização dos principais parâmetros, obteve-se as melhores condições para a determinação do íon metálico Pb (II) em solução eletrolítica (branco) pela técnica VRA, de acordo com os dados mostrados na Tabela 1.

Parâmetros	Especificações
Tempo de Desaeração	5 min
Tempo de Pré-Concentração	300 s
Tempo de Equilíbrio	15 s
Potencial Inicial	-0,7 V
Potencial Final	-0,2 V
Potencial de Deposição	-0,6 V
Velocidade de Varredura	0,03 V.s $^{-1}$
Direção da Varredura	Anódica
Modo de Varredura	Pulso Diferencial
Amplitude de Pulso	0,05 V

Tabela 1: Parâmetros eletroquímicos para determinação de Pb (II) por voltametria de redissolução anódica por pulso diferencial.

3.2 Curva Analítica para Chumbo utilizando Voltametria de Redissolução Anódica por Pulso Diferencial

A obtenção da curva analítica depende da otimização dos parâmetros anteriormente estudados e discutidos. Após a otimização das condições voltamétricas, as mesmas foram aplicadas em solução eletrolítica (mistura de propan-1-ol, ácido nítrico e água ultra-pura).

Para se certificar que os picos encontrados na leitura voltamétrica do branco eram do metal chumbo, adicionou-se sucessivas alíquotas de 25 μL de solução padrão de Pb (II) na concentração de 1×10^{-5} mol L⁻¹, proporcionando um aumento linear da altura da corrente de pico na faixa de concentração de 2,5 a $9,9 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹. Observou-se que os resultados acima dessa concentração proporcionam o desvio da linearidade provocada pela diminuição da corrente de pico do metal em estudo, indicando assim, uma saturação do EFM.

A Figura 5 mostra os voltamogramas (A) característicos do metal Pb(II) no branco, onde observou-se que à medida que se adicionava alíquotas de Pb(II), o pico aumentava e a curva analítica (B) correspondente relacionada à média da triplicata da leitura de cada ponto.

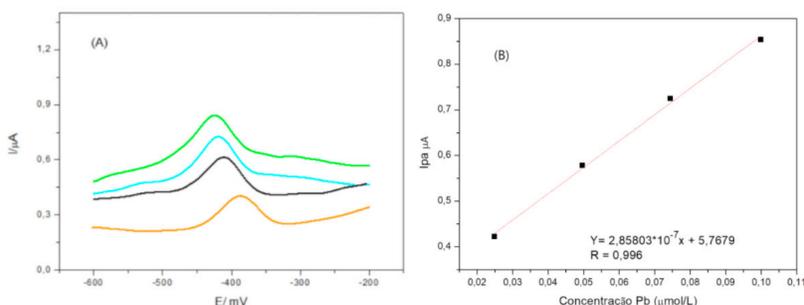


Figura 5: (A) Voltamograma característicos do branco, utilizando eletrodo de carbono vítreo com filme de mercúrio, referente à determinação de Pb (II). $E_i = -0,6$ V; $E_f = -0,2$ V; $v = 0,03$ V s⁻¹; $t_{pré} = 300$ s. Solução estoque de Pb (II): 1×10^{-5} mol L⁻¹; alíquotas de adição padrão: 25 μL ($2,49 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ de Pb). (B) Curva Analítica.

Com base nos resultados obtidos nas duas técnicas, observou-se que a técnica de voltametria de redissolução anódica apresentou melhores resultados.

A tabela 2 apresenta a comparação do LD e LQ obtido nas duas técnicas:

Técnica	Limite de Quantificação (LQ)	Limite de Detecção (LD)
Voltametria de Redissolução Anódica por Pulso Diferencial	$5,18 \times 10^{-8} \text{ mol.L}^{-1}$	$1,55 \times 10^{-8} \text{ mol.L}^{-1}$
Voltametria de Onda Quadrada	$6,22 \times 10^{-8} \text{ mol.L}^{-1}$	$2,81 \times 10^{-8} \text{ mol.L}^{-1}$

Tabela 2: Resultado do LQ e LD nas técnicas de Voltametria de Redissolução Anódica por Pulso Diferencial e Voltametria de Onda Quadrada.

3.3 Análises Voltamétricas de Pb (II) em Amostras de Gasolina Microemulsionada por Voltametria de Redissolução Anódica por Pulso Diferencial

Após a otimização das condições experimentais, análises voltamétricas foram realizadas utilizando os parâmetros otimizados em amostras de gasolina comercial microemulsionada.

Observou-se que o metal chumbo apresenta sinal numa faixa de mais ou menos -450 mV na microemulsão de gasolina, correspondendo à área do metal chumbo.

Para se certificar que os picos encontrados na leitura voltamétrica das microemulsões eram do metal chumbo, adicionou-se alíquotas de 25 μL de solução de Pb (II) na concentração de $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (Concentração final na célula de $2,49 \times 10^{-8} \text{ mol. L}^{-1}$).

A Figura 6 mostra os voltamogramas (A) característicos do metal Pb(II) na microemulsão de gasolina, onde observou-se que à medida que se adicionava alíquotas de Pb(II) o pico aumentava e a curva analítica (B) correspondente.

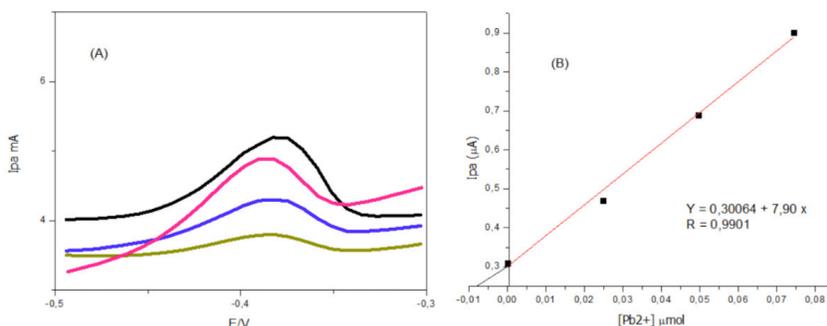


Figura 6: (A) Voltamogramas característicos da microemulsão de gasolina, utilizando eletrodo de carbono vítreo com filme de mercúrio, referente à determinação de Pb (II). Solução estoque de Pb (II): $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; alíquotas de adição padrão: 25 μL ; (B) Curva Analítica.

Onde de acordo com a Figura 6, observou-se uma boa resposta linear da curva analítica, na faixa de concentração de 0,0249 mol L⁻¹ a 7,44 x 10⁻⁸ mol L⁻¹ de Pb (II), com a reta passando muito próximo da origem. A regressão linear da curva analítica, representada pela equação: $y = 0,30064 + 7,90 x$, mostrou um coeficiente de correlação de 0,9901, cuja concentração de Pb (II) é de 4,05 x 10⁻⁸ mol L⁻¹.

3.4 Validação dos Métodos Analíticos

A validação do método proposto foi realizada através dos cálculos estatísticos dos resultados obtidos nos testes de repetibilidade, precisão intermediária, limite de detecção, limite de quantificação e exatidão, conforme descrito anteriormente.

3.4.1 Precisão

A precisão das medidas foi avaliada pelo teste da repetitividade das leituras voltamétricas e reprodutibilidade (microemulsões de uma amostra de gasolina comercial preparadas em dias diferentes).

3.4.2 Repetibilidade

O teste da repetibilidade das leituras voltamétricas foi realizado com base em uma varredura voltamétrica de uma microemulsão com sucessivas adições do Pb (II). A Tabela 3 apresenta todos os resultados obtidos no teste de repetibilidade.

Medidas	Microemulsão com adição padrão Pb(II) 4,83x10 ⁻³ mol/L (100 µL)
Ip ₁ (A)	3,25x10 ⁻⁶
Ip ₂ (A)	3,56x10 ⁻⁶
Ip ₃ (A)	3,76x10 ⁻⁶
Ip ₄ (A)	4,47x10 ⁻⁶
Ip ₅ (A)	4,65x10 ⁻⁶
\bar{X}	3,94x10 ⁻⁶
S	0,168655
CV	4,86%

Tabela 3: Medidas de Corrente no Estudo da Repetibilidade da Microemulsão de Gasolina para o Metal Pb (II)

3.4.3 Reprodutibilidade

Para os testes de reprodutibilidade foram realizados novos experimentos, onde a cada dia era preparada uma nova microemulsão, preparado um novo filme de mercúrio e em seguida, realizadas as leituras voltamétricas.

Com base nos experimentos foram realizados os cálculos estatísticos para a reprodutibilidade das análises das medidas voltamétricas realizadas em

microemulsões preparadas em dias diferentes e analisadas com filmes de mercúrio preparados também em dias diferentes.

A Tabela 4 apresenta todos os resultados obtidos no teste de reprodutibilidade.

Medidas	Microemulsão com adição padrão Pb(II) $4,83 \times 10^{-3}$ mol/L (100 μ L)
$Ip_1(A)$	$3,76 \times 10^{-6}$
$Ip_2(A)$	$4,47 \times 10^{-6}$
$Ip_3(A)$	$3,25 \times 10^{-6}$
$Ip_4(A)$	$4,65 \times 10^{-6}$
$Ip_5(A)$	$3,56 \times 10^{-6}$
$Ip_6(A)$	$4,47 \times 10^{-6}$
$Ip_7(A)$	$3,76 \times 10^{-6}$
$Ip_8(A)$	$3,25 \times 10^{-6}$
$Ip_9(A)$	$3,56 \times 10^{-6}$
$Ip_{10}(A)$	$4,65 \times 10^{-6}$
\bar{X}	$3,94 \times 10^{-6}$
S	0,178885
CV	4,89%

Tabela 4: Medidas de Corrente no Estudo da Reprodutibilidade da Microemulsão de Gasolina para o Metal Pb (II).

Os dados apresentaram uma boa precisão, baseada na repetibilidade e reprodutibilidade das leituras voltamétricas, cujo valor de CV foi de 4,86% e 4,89% respectivamente, sendo satisfatório do ponto de vista analítico, pois, estes valores são menores que 5% que é um erro considerado aceitável tratando-se de análise de traços (MENDHAM et al., 2000).

3.4.4 Limite de Detecção e Quantificação

Após a realização dos procedimentos necessários para o estudo de precisão, foram realizados em seguida, o estudo para determinação do limite de detecção e limite de quantificação, conforme descritos anteriormente.

Dessa forma, obteve-se para Pb (II), um limite de detecção de $1,55 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ e um limite de quantificação de $5,18 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹.

A Tabela 5 apresenta os parâmetros avaliados, estatisticamente, com base nos experimentos realizados para determinação de Pb (II) em microemulsão de gasolina utilizando voltametria de redissolução anódica.

PARÂMETROS AVALIADOS	
Faixa Linear de Concentração	0,0249 $\mu\text{mol L}^{-1}$ a 0,0744 $\mu\text{mol L}^{-1}$
LD	1,55x10 ⁻⁸
LQ	5,18x10 ⁻⁸
R	0,9901
Teor de Pb (II) em microemulsão de gasolina	4,05 x 10 ⁻⁸ mol ou 1,95x10 ⁻¹⁰ g L ⁻¹

Tabela 5: Resultados Obtidos na Determinação Voltamétrica de Pb (II) em Microemulsão de Gasolina.

3.4.5 Exatidão

Neste estudo, quantidades de Pb (II) foram adicionados em uma amostra de microemulsão de gasolina, cuja concentração de Pb (II) original, foi previamente determinada. Os resultados foram apresentados na Tabela 6.

Valor de Pb (II) Adicionado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Valor de Pb (II) Recuperado (mol L^{-1})	Porcentagem Recuperada (%)	Média Porcentagem Recuperada (%)
0,024	0,021	87,5%	96,5%
0,049	0,049	100%	
0,0744	0,0759	102%	

Tabela 6: Testes de Recuperação para a Determinação de Pb (II) em Amostra de Microemulsão de Gasolina.

A porcentagem de recuperação encontrada variou de 87,5% a 102% sendo satisfatório do ponto de vista estatístico, pois, estes valores estão dentro da faixa considerada aceitável de 70 a 110%.

4 | CONCLUSÃO

Os resultados obtidos confirmam que o Eletrodo de Filme de Mercúrio apresenta grande potencialidade para a determinação do íon metálico Pb (II) em microemulsões de gasolina;

Mesmo com a baixa estabilidade observada do filme de mercúrio na superfície do eletrodo de carbono vítreo (uma vez que a distribuição de mercúrio na superfície do eletrodo de carbono vítreo não pode ser precisamente controlada), este apresentou boa resposta analítica para a determinação de Pb (II), nas condições avaliadas, na faixa de concentração estudada (2,49x10⁻⁸ a 9,90x10⁻⁸ mol L⁻¹), usando uma mistura

de propan-1-ol + solução de ácido nítrico ($1,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹) como eletrólito suporte;

Os limites de detecção obtidos para Pb (II) através da técnica de Voltametria de Redissolução Anódica por Pulso Diferencial foi de $1,55 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ e o limite de quantificação foi de $5,18 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ e o teor de Pb (II) encontrado foi de $4,05 \times 10^{-8}$ mol ou $1,95 \times 10^{-10}$ g L⁻¹ na técnica escolhida;

Os resultados estatísticos mostraram precisão aceitável apresentando CV de 4,86% para repetibilidade e 4,89% para reprodutibilidade, e uma percentagem de recuperação variando de 87,5 a 102% sendo considerado satisfatório, levando-se em consideração que cada análise é realizada com um novo depósito. Formulação de Combustíveis Alternativos em Sistemas Microemulsionados Empregando Óleos Vegetais e Derivados de filme de mercúrio na superfície do eletrodo de carbono vítreo e que essa deposição do filme nunca ocorre de forma uniforme e idêntica.

REFERÊNCIAS

AUCÉLIO, R. Q., DOYLE, A., PIZZORNO, B. S., TRISTÃO, M. L. B., CAMPOS, R. C. **Electrothermal atomic absorption spectrometric method for the determination of vanadium in diesel and asphaltene prepared as detergentless microemulsions.** *Microchemical Journal*, 78, 21-26, 2004.

FERNANDES, M. R.; **Formulação de novos combustíveis base diesel: avaliação de desempenho e emissões.** Tese de Doutorado - UFRN, Natal 2011.

FERREIRA, M. S. Dissertação de Mestrado - UFMA, São Luis, 2006.

LEITE, F. **Validação em análise química.** Campinas: Átomo, 1996.

MARQUES, A. L. B.; MARQUES, E. P.; LACERDA, C. A.; CAVALCANTE, G.H. R.; TRINDADE, J. M.; MARTINIANO, L. C.; ABRANTES, V. R.; **controle de qualidade e métodos analíticos para derivados de petróleo e biocombustíveis,** *Plural, ISSN 2238-4413; vol. junho, No 4, pgs. 138-150, 2012.*

MARTINIANO, L. C.; ALMEIDA, M.S.; CAVALCANTE, G. H. R.; MARQUES, E. P.; FONSECA, T. C.O.; PAIM, L. L.; SOUZA, GOUVEIA, A.; STRADIOTTO, N. R.; AUCELIO, R.Q.; MARQUES, A.L.B. **Simple, Direct and Simultaneous Stripping Voltammetric Determination of Lead and Copper in Gasoline Using an In Situ Mercury Film Electrode.** *Current Analytical Chemistry*, v. 9, p. 1-3, 2013.

MARTINIANO, L. C.; **Validação De Um Método Para Determinação de Metais Em Microemulsões De Combustíveis Por Voltametria De Redissolução.** Tese de Doutorado - UFPB, João Pessoa, 2009.

MENDHAM, J.; DENNEY, R. C.; BARNES, J. D.; THOMAS, M. **Análise Química Quantitativa.** VOGEL. 6ª ed. LTC, Londres, 2000.

MOREIRA, F. R.; MOREIRA, J. C.; PIVETTA, F. COUTADA. L. **Influência da geometria da plataforma na determinação de chumbo,** 25, 379-383, 2002.

SAINT, P.; DIAS, T.D.; POZEBON, D.; AUCÉLIO, R.Q.; CURTIUS, A.J.; WELZ, B.
Determination of Cu, Mn, Ni and Sn in gasoline by electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry and emulsion sample introduction. *Spectrochimica Acta Pat B*, 57, 1991- 2001, 2002.

SOUSA, J. K. C.; DANTAS, A. N. S.; MARQUES, A. L. B.; LOPES, G. S. **Experimental design applied to the development of a copper direct determination method in gasoline samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry,** *Fuel*, 2008.

CAPÍTULO 3

ANÁLISE DOS PRODUTOS DE REAÇÃO DA CONDENSAÇÃO ENTRE 2-HIDRÓXI-ACETOFENONA E P-ANISALDEÍDO EM MEIO BÁSICO

Data de aceite: 01/09/2020

Data de submissão: 02/06/2020

Heriberto Rodrigues Bitencourt

Universidade Federal do Pará
Belém- Pará

<http://lattes.cnpq.br/9418240134272692>

Carlos Alberto Beckman de Albuquerque

Universidade Federal do Pará
Belém- Pará

<http://lattes.cnpq.br/0399402606059948>

Antonio Pedro da Silva Souza Filho

EMBRAPA- Amazônia Oriental
Belém- Pará

<http://lattes.cnpq.br/1691897760012496>

Maricelia Lopes dos Anjos

Universidade Federal do Pará
Belém- Pará

<http://lattes.cnpq.br/4888815197981944>

Carla Jacqueline de Almeida Maciel

Universidade Federal do Pará
Belém- Pará

<http://lattes.cnpq.br/9546602643713721>

Jeferson Rodrigo Souza Pina

Universidade Federal do Pará
Belém- Pará

<http://lattes.cnpq.br/7563783601958903>

José Ciríaco Pinheiro

Universidade Federal do Pará
Belém- Pará

<http://lattes.cnpq.br/3865941378792183>

Lady Laura Pantoja Pereira de Carvalho

Universidade Federal do Pará
Belém- Pará

<http://lattes.cnpq.br/2028736708031465>

Andrey Moacir do Rosário Marinho

Universidade Federal do Pará
Belém- Pará

<http://lattes.cnpq.br/2511998363000599>

Ossalin de Almeida

Universidade Federal do Pará
Belém- Pará

<http://lattes.cnpq.br/7040173036131516>

RESUMO: A busca por substâncias biologicamente ativas é de grande importância, principalmente pelo fato da resistência bacteriana frente ao arsenal terapêutico existente. Os flavonoides, substância proveniente do metabolismo secundário pode ser uma boa alternativa. Devido a esses fatores, neste trabalho relata-se o estudo da reação da 2-hidróxi-acetofenona e p-anisaldeído, na tentativa de obter a 2'-hidróxi-chalcona, um intermediário na síntese de flavonoides. Neste estudo analisou-se os produtos formados pela variação de condições de reação, sob refluxo à 90°C, durante 3 horas e 10% de solução de NaOH; à temperatura ambiente, sob agitação e sem aquecimento com 10% de NaOH; e durante 3 horas de agitação magnética utilizando solução à 50% de NaOH. As análises foram feitas por HPLC, Espectrometria de massas e RMN de Hidrogênio.

PALAVRAS-CHAVE: Reação de Condensação, Chalcona, Flavanona.

ANALYSIS OF THE ALDOL CONDENSATION REACTION USING 2-HYDROXY-ACETOPHENONE AND P-ANISALDEHYDE

ABSTRACT: The search for biologically active substances is of great importance, mainly because of the bacterial resistance against the existing therapeutic arsenal. Flavonoids, a substance derived from secondary metabolism, can be a good alternative. Due to these factors, this work reports the study of the reaction of 2-hydroxy-acetophenone and p-anisaldehyde, in an attempt to obtain 2'-hydroxy-chalcone, an intermediate in the synthesis of flavonoids. In this study we analyzed the products formed by the variation of reaction conditions, under reflux at 90°C, for 3 hours and 10% NaOH solution under stirring; at room temperature, under stirring and without heating in 10% NaOH; and for 3 hours of magnetic stirring using 50% NaOH solution. Analyze were performed by HPLC, mass spectrometry and H¹-NMR.

KEYWORDS: Condensation Reaction, Chalcone, Flavanone.

1 | INTRODUÇÃO

A busca por substância com atividade biológica para utilização na indústria farmacêutica é basicamente feita em dois caminhos. Um é a modificação estrutural de drogas já existentes, que provou ser um meio eficaz de prolongar a vida útil de vários grupos de medicamentos. A outra, é o desenvolvimento de novas classes de drogas que possam atuar em diferentes alvos biológicos, como pode ser o caso dos produtos naturais, flavonoides, alcaloides, acetogeninas, além de substâncias sintéticas inéditas.

Os flavonoides que são derivados do metabolismo secundário, constituem uma família de moléculas diversas, contendo dois anéis aromáticos, que estão conectados por um anel pirânico. Estes compostos podem ser agrupados nos seguintes subgrupos principais: chalconas, diidrochalconas, flavonas, flavonóis, catequinas ou flavanóis, flavanonas, antocianinas e isoflavonas (Figura 1) (HOFFMANN-RIBANI e RODRIGUEZ-AMAYA, 2008).

Sendo uma das classes promissoras, pois a literatura relata atividades antimicrobiana via inibição da síntese de ácidos nucleicos, inibição da síntese de proteínas, inibição da síntese de lipídios, e inibição das funções da membrana plasmática, também, possuem atividade antioxidante (FLORIANO et al, 2020), atividade antiviral e antibacteriana (WANG et al, 20017), atividades antifúngicas, inibindo a germinação de esporos de patógenos de plantas, atividades antivirais, contra o vírus da imunodeficiência humana (HIV) (CUSHNIE e LAMB, 2005) e atividade anti-inflamatória (KIM et al, 2004), entre outras.

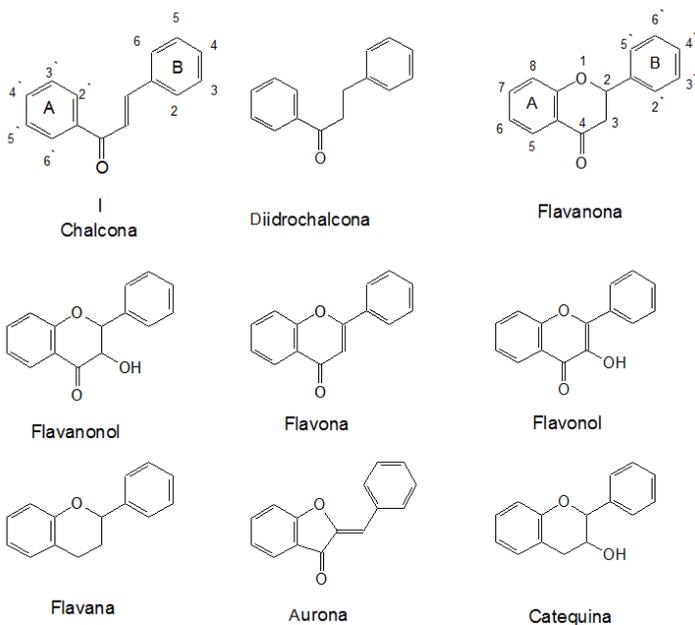


Figura 1 – Estrutura química geral da classe dos flavonóides.

As chalconas, representadas pela estrutura I, pertencem à classe dos flavonoides (DEWICK, 2001) e são consideradas como intermediárias essenciais na rota biosintética dos flavonoides (DIXON e STEELE, 1999), que são formados pela ciclização da hidroxila localizada na posição 2' das chalconas (Figura 2) (NAKANISHI, 1975).

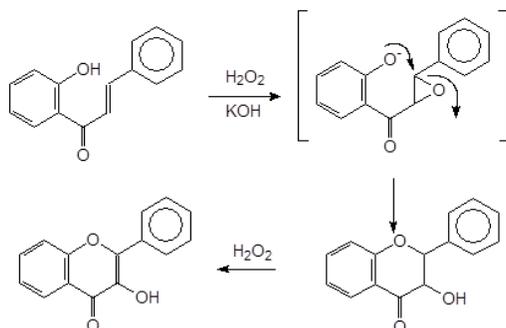


Figura 2 – Esquema da equação química da síntese de Flavonoides.

A 2'-hidróxi-chalcona é o principal intermediário para a obtenção dos flavonóides, sendo obtida pela reação entre a 2-hidróxi-acetofenona e benzaldeídos

substituídos (MPHAHLELE e FERNANDES, 2002), entretanto, vários outros produtos podem ser obtidos (Figura 3), o que diminui o rendimento de obtenção da chalcona de interesse.

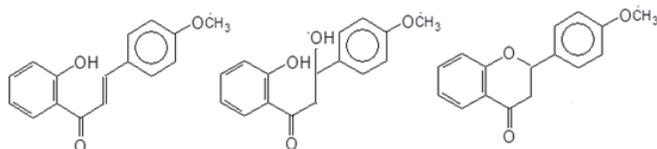


Figura 3 – Prováveis produtos de reação, entre 2-acetofenona e p-anisaldeído.

Com o objetivo de obter condições mais favoráveis para a obtenção de 2'-hidróxi-chalconas, as quais serão utilizadas na síntese de flavonoides, realizou-se três experimentos, variando o tempo de reação, concentração do catalisador e temperatura de reação, utilizando 2-hidróxiacetofenona e p-anisaldeído.

2 | METODOLOGIA

2.1 Equipamentos utilizados

Espectrômetro de massas Waters Acquity TQD, Espectrômetro de RMN Bruker Ascend 400 (400 MHz), Cromatógrafo da linha Alliance e2695 (Waters) (Pós-Graduação em Química/UFPA).

2.2 Reagentes e soluções

Os reagentes utilizados foram das marcas Aldrich, Vetec ou Nuclear, todos PA.

2.3 Procedimento cromatográfico por CLAE/DAD

O desenvolvimento do método cromatográfico para análise dos produtos de reação foi realizado em cromatógrafo da linha Alliance e2695 (Waters), com um sistema de bomba binário e injetor automático acoplado a um detector de UV/Vis com arranjo de diodo abrangendo a faixa de comprimento de onda de 210 – 600 nm. A fase estacionária foi uma coluna de fase reversa Sunfire C18 (150 x 4,6 mm, 5 μ m), com coluna de guarda Sunfire C18 (20 mm x 4,6 mm, 0,5 μ m) e fluxo de 1mL/min em forno termostático a 40°C. A amostra foi eluída em metanol grau HPLC (Jt Baker®) e posteriormente filtrada em membranas filtrantes de nylon com poros de 0,45 μ m, da marca Millipore (Tullagreen, Carrigtwohill, Irlanda). A fase móvel constituiu-se de uma mistura binária de água ultra pura (GEHAKA) e MeOH filtrado em gradiente exploratório linear de eluição na proporção do método de H₂O-MeOH 90:10 a 0:100

de B em 60 min. As amostras foram injetadas com um volume de 20 μ L.

2.4 Procedimentos das reações

Procedimento A

Em um frasco de erlenmeyer de 250 mL, foram adicionados 20 mL de etanol, 3 g de 2-hidróxi-acetofenona, 10 mL hidróxido de sódio (10%) e mantidos sob agitação magnética a temperatura ambiente, em seguida foi adicionado 3 mL de p-anisaldeído. Essa mistura foi mantida em agitação (T.a.) por cerca de 3 hs, após esse período, foi armazenada em freezer por 24 hs. Após esse tempo, foi acidificada com solução de ácido acético (20%) até pH ácido. A solução ácida, posteriormente, foi submetida a extração com CH_2Cl_2 PA em ampola de decantação de 250 mL, três vezes, para obtenção da solução diclorometânica. Essa solução, foi lavada com água destilada (3 vezes) e secada com Na_2SO_4 anidro, filtrada e evaporada, fornecendo os produtos quantitativamente.

Procedimento B

Em um frasco de erlenmeyer de 250 mL, foram adicionados 20 mL de etanol, 3 g de 2-hidróxi-acetofenona, 10 mL hidróxido de sódio (50%) e mantidos sob agitação magnética a temperatura ambiente, em seguida foi adicionado 3 mL de p-anisaldeído. Essa mistura foi mantida em agitação (T.a.) por cerca de 3 hs, após esse período foi armazenada em freezer por 24 hs. Após esse tempo, foi acidificada com solução de ácido acético (20%) até pH ácido. A solução ácida, posteriormente, foi submetida a extração com CH_2Cl_2 PA em ampola de decantação de 250 mL, três vezes, para obtenção da solução diclorometânica. Essa solução, foi lavada com água destilada (3 vezes) e secada com Na_2SO_4 anidro, filtrada e evaporada, fornecendo os produtos quantitativamente.

Procedimento C

Em balão de fundo chato e boca esmerilhada de 250 mL, foram adicionados 20 mL de etanol, 3 g de 2-hidróxi-acetofenona, 10 mL hidróxido de sódio (10%) e em seguida 3 mL de p-anisaldeído, sob agitação magnética. Essa mistura reacional foi acoplada a um condensador de tubo reto e mantida sob refluxo (temperatura de 90 °C) com agitação magnética por cerca de 4h, após esse tempo, foi armazenada em freezer por 24 hs. Após esse tempo, foi acidificada com solução de ácido acético (20%) até pH ácido. A solução ácida, posteriormente, foi submetida a extração com CH_2Cl_2 PA em ampola de decantação de 250 mL, três vezes, para obtenção da solução diclorometânica. Essa solução, foi lavada com água destilada (3 vezes)

e secada com Na_2SO_4 anidro, filtrada e evaporada, fornecendo os produtos quantitativamente.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela análise dos cromatogramas das reações, verificam-se que nos procedimentos A e B, existem 3 picos, enquanto que no cromatograma do procedimento C (Figura 4), existem 5 picos, 2 a mais. Sendo dois com tempo de retenção diferentes. Em relação aos 3 picos de A e B. Também, verifica-se que o terceiro pico, encontra-se com uma maior intensidade em B.

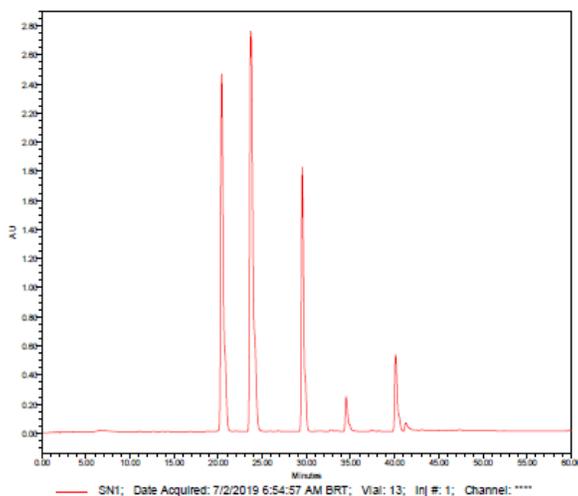


Figura 4 – Cromatograma do procedimento C.

A análise de RMN de Hidrogênio do procedimento C (Figura 5), indica a ausência da 2'-hidróxi-chalcona o intermediário necessário para a síntese de flavonóide, devido a ausência do duplete com acoplamento da ordem de $\sim 16\text{Hz}$, característico dessas substâncias, por ter configuração trans na dupla ligação. Entretanto, observam-se sinais relativos aos hidrogênios da metila, em $\delta 2,68\text{ppm}$ (provavelmente do material de partida; 2-hidróxi-acetofenona), sinal relativo de hidrogênio aldeídico $\delta 12,1\text{ppm}$ (provavelmente do material de partida; para-anisalaldeído) e sinais relativo aos hidrogênio do anel pirânico em $\delta 5,30$ (dd; $J_{\text{trans}} = 9\text{Hz}$ e $J_{\text{cis}} = 3\text{Hz}$), $\delta 3,45$ (dd; $J_{\text{gem}} = 17\text{Hz}$ e $J_{\text{trans}} = 9\text{Hz}$) e $\delta 3,30$ (dd; $J_{\text{gem}} = 17\text{Hz}$ e $J_{\text{cis}} = 3\text{Hz}$), provavelmente pela formação da flavanona (HARBONE, 1975).

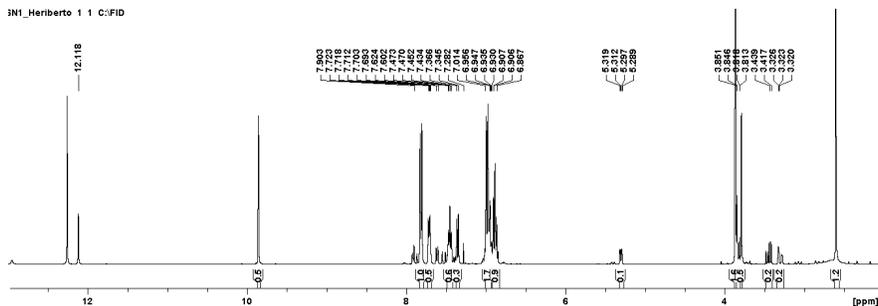


Figura 5 – Espectro de RMN-¹H (400MHz; CDCl₃) do procedimento C.

A análise do espectro de massas do procedimento C, indicou a presença de um pico de carga/massa de 254 (100%) e 238 (83%), correspondente a flavanona (C₁₆H₁₄O₃); pico de carga/massa 136 correspondente de 2'-hidróxi-acetofenona e para-anisalaldeído (C₈H₈O₂) e de carga/massa em 272 (5%) correspondente ao intermediário de reação, provavelmente de 1-(2'-hidróxi-fenil)-3-hidróxi-3-(4-metóxi-fenil)-propan-1-ona (C₁₆H₁₆O₄). Também, não foi observado nenhuma informação com relação a 2'-hidróxi-chalcona, confirmando as informações obtidas via o espectro de RMN-¹H.

REFERÊNCIAS

CUSHNIE, T. P. T. and LAMB, A. J. **Antimicrobial Activity of flavonoids**. International Journal of Antimicrobial Agents, 26: 343–356, 2005.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products**. John Wiley and Sons, Ltda. 486p. 2001.

DIXON, R. A. and STEELE, C. L. **Flavonoids and isoflavonoids - a gold mine for metabolic engineering**. Trends Plant Sci. v. 4, nº 10, p. 394-400, 1999.

FLORIANO, R. F.; GRABIN, K.ROSSI, R. C.; FERREIRA, C. D.; ZIEGLER, V. **Propriedades tecnológicas e sensoriais de pasta de amendoim elaborada com ingredientes prebióticos**. Braz. J. of Develop. v. 6, n 3, p. 13713-13726, 2020.

HARBORNE, J. B. **The flavonoids - Part I**. Ed. Chapman and Hall. London, p. 525, 1975.

HOFFMANN-RIBANI, R. e RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Otimização De Método Para Determinação De Flavonóis E Flavonas Em Frutas Por Cromatografia Líquida De Alta Eficiência Utilizando Delineamento Estatístico E Análise De Superfície De Resposta**. Quim. Nova, v. 31, nº 6, p. 1378-1384, 2008.

KIM, H. P.; SON, K. H.; CHANG, H. W. and KANG, S. S. **Anti-inflammatory Plant Flavonoids and Cellular Action Mechanisms**. J Pharmacol Sci v. 96, p. 229– 245, 2004.

MPHAHLELE, M. J. and FERNANDES, M. A. **Isolation and crystal structure of 3-aryl-1-(2-hydroxyphenyl)-3-hydroxy-1-propanones derived from Claisen-Schmidt condensation of 2-hydroxyacetophenone with benzaldehyde derivatives.** South African Journal of Chemistry. v. 55, p. 97-110, 2002.

NAKANISHI, K. **Natural Products Chemistry. Vol 2.** Academic Press. 596 p. 1975.

WANG, T.-Y.; LI, Q. and BI, K.-S. **Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate.** Asian Journal of Pharmaceutical Sciences v. 13, p. 12-23, 2017.

ANÁLISE TÉRMICA DO POLI (ÁCIDO LÁTICO) COM AGENTES NUCLEANTES: TALCO, PET MICRONIZADO E ARGILA MONTMORILONITA

Data de aceite: 01/09/2020

Data de submissão: 11/06/2020

Alex Melo da Silva

Faculdade de Tecnologia de Mauá - Centro
Estadual de Educação Tecnológica Paula
Souza
São Paulo-Brasil
<http://lattes.cnpq.br/1708335120564661>

Anderson Maia

Faculdade de Tecnologia de Mauá - Centro
Estadual de Educação Tecnológica Paula
Souza
São Paulo-Brasil
<http://lattes.cnpq.br/5240453793200026>

Rondes Ferreira da Silva Torin

Faculdade de Tecnologia de Mauá - Centro
Estadual de Educação Tecnológica Paula
Souza
São Paulo-Brasil
<http://lattes.cnpq.br/1494809578346372>
orcid.org/0000-0002-7611-5803

RESUMO: O presente estudo destina-se observar o comportamento térmico do polímero poli(ácido lático) (PLA), quando adicionado os agentes modificadores, potenciais agentes de nucleação: talco, PET micronizado e argila Montmorillonita (MMT). Para tanto, foram produzidas amostras de PLA com 0,4% de agente modificador e 1% de lubrificante Lubvin 110, em extrusora dupla rosca corrotacional. As amostras obtidas foram analisadas por

Calorimetria Diferencial Exploratória DSC para determinação dos eventos térmicos característicos, temperatura de fusão (T_f) e temperatura de cristalização (T_c). Os resultados obtidos desta análise e para observar se ocorreram melhorias nas propriedades térmicas do polímero (PLA) quando adicionados os potenciais agentes de nucleação.

PALAVRAS-CHAVE: Poli (ácido lático), PET, talco, montmorillonita, cristalinidade.

THERMAL ANALYSIS OF POLY (LACTIC ACID) WITH NUCLEATING AGENTS: TALC, MICRONIZED PET AND MONTMORILLINE CLAY

ABSTRACT: The present study aims to observe the thermal behavior of poly (lactic acid) polymer (PLA), when added the modifying agents, potential nucleating agents: talc, micronized PET and Montmorillonite clay (MMT). To this end, samples of PLA were produced with 0.4% modifying agent and 1% Lubvin 110 lubricant in a double corotational screw extruder. The test specimens were obtained in the form of injected platelets which were subjected to their determination of the melting temperature (T_m) and crystallization temperature (T_c) in a DSC-Exploratory Differential Calorimetry equipment. The results obtained from this analysis and to observe if there were improvements in the thermal properties of the polymer (PLA) when added the potential nucleating agents.

KEYWORDS: Poly (Lactic acid), PET, talc, montmorillite, crystallinity.

1 | INTRODUÇÃO

O poliláctico (PLA) é um polímero biodegradável promissor para substituição de polímeros derivados do petróleo devido obter boa aceitação no meio científico e mercadológico, em decorrência disso, tornando-o atrativo em desenvolvimentos de novos produtos como por exemplo embalagens [1]. O PLA pode ser obtido a partir de fontes agrícolas renováveis, além de ser reciclável e compostável atraindo novos olhares em sua produção. Porém, este material puro apresenta limitações para aplicações como embalagens, por exemplo, devido sua baixa resistência mecânica, térmica e flexibilidade em comparação com outras poliolefinas comumente usadas para tal aplicação, por isso, o uso de modificadores de propriedades físicas e mecânicas tais como flexibilidade, resistência térmica, resistência ao impacto bem como o processamento são extensamente investigados[2-5]. Diante disso, o presente estudo foi realizado a fim de medir se ocorreu um aumento da temperatura de cristalização do PLA quando adicionados agentes modificadores, tais como o talco, polietileno tereftalato micronizado (PET) e argila montmorilonita (MMT) em uma matriz polimérica de PLA.

Desta forma, para comprovar se houve um aumento na temperatura de cristalização do polímero, utilizamos a técnica de ensaio DSC (Calorimetria diferencial exploratória). Segundo a norma ASTM D3417-99.

2 | EXPERIMENTAL

2.1 Materiais

O PLA utilizado foi obtido da empresa NatureWorks-EUA, o PET micronizado da Air Plast, MMT proveniente da Nanocor-EUA, o talco Talmag da empresa Magnesita e o lubrificante lubvin 110 da empresa Baerlocher.

2.2 PLA com agentes modificadores

As amostras de PLA com os agentes modificadores PET, talco e MMT, foram preparadas em extrusora dupla rosca corrotacional, com perfil de aquecimento de 151°C, 160°C, 169°C, 181°C, 184°C, 189°C e 180°C em cada zona de aquecimento. Foram preparadas amostras de PLA seguindo duas formulações: na primeira formulação foi usado 0,4% de agente modificador e 0,04% de lubrificante, na segunda formulação, por sua vez, utilizou-se 1% de agente modificador e 0,1% de lubrificante, como mostrado na tabela 1.

Formulações	PLA	Agente modificador	Lubrificante
PLA + 0,4% PET	99,56 %	0,4 %	0,04 %
PLA + 0,4% Talco	99,56 %	0,4 %	0,04 %
PLA + 0,4% MMT	99,56 %	0,4 %	0,04 %
PLA + 1,0% PET	98,90 %	1,0 %	0,01 %
PLA + 1,0% Talco	98,90 %	1,0 %	0,01 %
PLA + 1,0% MMT	98,90 %	1,0 %	0,01 %

Tabela 1 – Formulações de amostras de PLA com os agentes modificadores: PET, Talco e MMT.

Após finalizar o processo de extrusão, as amostras foram acondicionadas em uma estufa modelo Quimis com temperatura de 64°C para que pudesse ser removida qualquer traço de umidade residual.

2.3 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

As análises calorimétricas foram realizadas em um calorímetro diferencial de varredura (DSC) da TA Instruments, Modelo Q-20. Cerca de 10,0 mg de cada amostra foram acondicionadas em cadinhos de alumínio hermeticamente selados. Submetidos ao teste de aquecimento/resfriamento/aquecimento (heat/cool/heat – do inglês), com temperaturas entre 80 a 180°C, com taxa de aquecimento de 10°C.min⁻¹, sob atmosfera inerte de nitrogênio com fluxo de 50 mL.min⁻¹, de acordo com a norma ASTM D3417-99.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Amostras de PLA com 0,4% de agentes modificadores, PET, talco e MMT, foram analisadas a partir de curvas de DSC, mostradas nas figuras 1, 2 e 3, respectivamente.

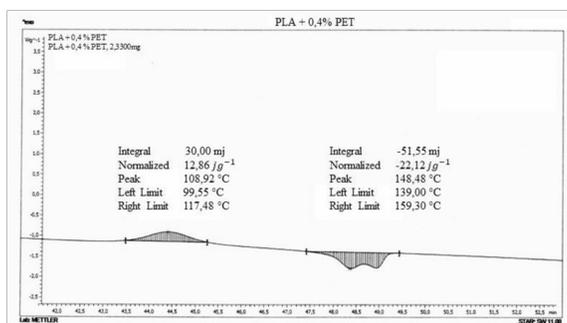


Figura 1. Curva de DSC do PLA com 0,4 % de PET.

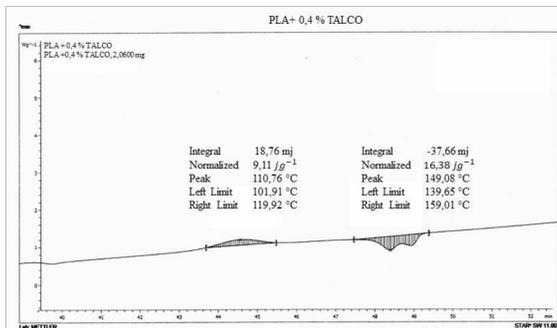


Figura 2. Curva de DSC do PLA com 0,4 % de talco

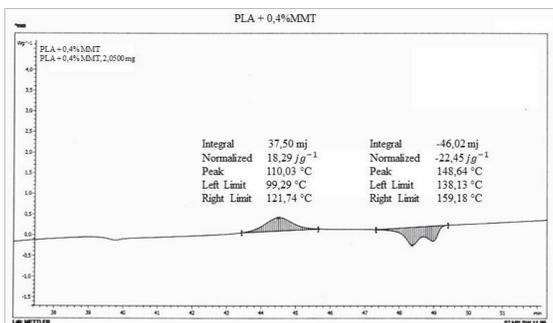


Figura 3. Curva de DSC PLA com 0,4% de MMT.

Os dados referentes a cada evento térmico observado nas curvas de DSC das amostras de PLA com 0,4%, bem como aquelas contendo 1% de agentes modificadores, foram sumarizados nas tabelas 2 e 3, as quais contêm as temperaturas e início e término de cada evento térmico (do *inglês*, T_{onset} e T_{endset}), temperatura de fusão (T_f) e de cristalização (T_c) e seus respectivos valores de entalpia.

De acordo com os dados encontrados, é possível observar que para as amostras de PLA com 1% de talco ocorreu aumento na T_c , sendo assim um forte candidato a agente nucleante. Já nas amostras de PLA com adição de PET não foi observado variações significativas, muito provavelmente por formarem potenciais sistemas de blends miscíveis.

	T_{onset} (°C)	T_{endset} (°C)	ΔH_f (J/g)	T_f (°C)
PLA puro (padrão)	102,97	119,38	10,90	112,58
PLA + 0,4% PET	99,55	117,48	12,88	108,92
PLA + 1,0% PET	100,73	119,40	12,87	110,45
PLA + 0,4% MMT	99,29	121,74	18,29	110,03

PLA + 1,0 % MMT	100,91	122,45	20,53	112,31
PLA + 0,4% Talco	101,91	119,92	9,11	110,75
PLA + 1,0% Talco	95,63	118,31	13,73	106,60

Tabela 2 – Dados de T_{onset} , T_{endset} , ΔH_f e T_f obtidos das curvas de DSC referente ao evento térmico fusão.

	T_{onset} (°C)	T_{endset} (°C)	ΔH_c (J/g)	T_c (°C)
PLA puro (padrão)	139,72	157,74	-22,43	149,49
PLA + 0,4% PET	139,00	159,30	-22,12	148,48
PLA + 1,0% PET	141,71	158,34	-17,71	148,77
PLA + 0,4% MMT	138,13	159,18	-22,45	148,64
PLA + 1,0% MMT	139,37	159,10	-23,36	149,22
PLA + 0,4% Talco	139,65	159,01	-18,38	149,08
PLA + 1,0% Talco	138,49	158,49	-20,89	154,35

Tabela 3 – Dados de T_{onset} , T_{endset} , ΔH_f e T_f obtidos das curvas de DSC referente ao evento térmico cristalização

Comparando PLA puro com PLA + 0,4% de argila, temos os seguintes valores para T_f e T_c . O PLA puro apresenta T_f em aproximadamente 112,58°C e T_c à 149,49°C, o PLA + 0,4% de PET apresentou T_f a 108,92°C e a T_c à 148,08°C. É possível observar que a T_f diminuiu 3,25% enquanto a temperatura T_c diminuiu 0,94%. Amostras de PLA com 0,4% de talco apresentaram valores de 110,75°C para a T_f e 149,08°C para a T_c . Em comparação aos dados do PLA puro já apresentados, amostras de PLA com 0,4% de talco apresentaram redução de 1,63% na T_f e de que 0,27% na T_c . Já as amostras de Amostras de PLA com 0,4% de MMT apresentaram valores de 110,75°C para a T_f e 148,54°C para a T_c . De maneira comparativa ao PLA puro houve redução de 1,63% na T_f e 0,63% na T_c . O que mostra que o PET não causou influência significativa na T_c do material.

Para as amostras de PLA com 1% de agentes nucleantes, de maneira geral, foi verificado variações mais significativas na cristalização do PLA.

4 I CONCLUSÕES

Os efeitos da adição dos potenciais agentes nucleantes em polímeros podem variar de acordo com sua afinidade e o teor em que foi adicionado ao polímero durante o processo. Neste estudo foi possível observar que o agente modificador talco adicionado ao PLA na proporção de 1%, se destacou como melhor efeito como

agente nucleante, pois as amostras do PLA com 1% de talco apresentaram aumento na temperatura de cristalização, observado no ensaio de DSC. De acordo com a literatura, aumento na cristalinidade proporciona ao polímero uma diminuição de ciclos de processamento, com melhorias nas propriedades mecânicas e térmicas.

REFERÊNCIAS

1. Auras, R.; Harte, B. & Selke, S. - *Macromol. Biosci.*, 4 (2004). PMID:15468294. <http://dx.doi.org/10.1002/mabi.200400043>
2. CANAVAROLO Jr., Sebastião V. *Ciência dos polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros*. 2º Ed. São Paulo: Artliber, 2010.
3. CANAVAROLO Jr., Sebastião V. *Técnicas de Caracterização de Polímeros*. Ed Artliber, 2007. [4] MANO, EV.; MENDES, LC.. *Introdução a polímeros*. 2º Ed. São Paulo: Edgard Bluncher, 1999.
4. Hassouna, F.; Raquez, J-M.; Addiego, F.; Toniazzo, V.; Dubois, P. & Ruch, D. - *Eur. Polym. J.*, 48, p.404 (2012).
5. Yang, M-B. - *Polym. Test.*, 27, p.957 (2008).
6. CALLISTER Jr., William D., *Ciência e engenharia dos Materiais*. 2008
7. Marinho, Jean Richard Dasnoy, *Macromoléculas e polímeros*. 2005.
8. MICHAELE, W. e outros. *Tecnologia dos plásticos*. Ed. Edgard Bluncher Ltda, 1995
9. AURAS RAFAEL; LIM LOONG-TAK; SUSAN EM; TSUJI HIDETO. *POLY (LACTIDE ACID) syntheses, structures, properties, processing and application*. Wiley; 2010.
10. (F. R. Lyle, U.S. Patent 5 973 257, 1985; *Chem. Abstr.* 1985, 65, 2870.)

APLICAÇÃO DA CFD NO ESTUDO DO EFEITO DO DIÂMETRO DE GOTAS E DO NÍVEL DE ÁGUA NA SEPARAÇÃO GRAVITACIONAL ÁGUA-ÓLEO

Data de aceite: 01/09/2020

Data de submissão: 01/06/2020

Vinicius Gomes Morgan

Universidade Federal do Rio de Janeiro
Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-
Graduação e Pesquisa em Engenharia
Rio de Janeiro - RJ
<http://lattes.cnpq.br/5141693722020039>

Daniel da Cunha Ribeiro

Universidade Federal do Espírito Santo
Centro Universitário Norte do Espírito Santo
São Mateus - ES
<http://lattes.cnpq.br/8563308324482367>

Ana Paula Meneguelo

Universidade Federal do Espírito Santo
Centro Universitário Norte do Espírito Santo
São Mateus - ES
<http://lattes.cnpq.br/1800610548349937>

Lucas Henrique Pagoto Deoclecio

Universidade Federal do Espírito Santo
Centro Universitário Norte do Espírito Santo
Vitória - ES
<http://lattes.cnpq.br/7292913244820007>

Wenna Raissa dos Santos Cruz

Universidade Federal do Rio de Janeiro
Rio de Janeiro - RJ
<http://lattes.cnpq.br/6224531649320834>

Luciana Spinelli Ferreira

Universidade Federal do Rio de Janeiro
Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-
Graduação e Pesquisa em Engenharia
Rio de Janeiro - RJ
<http://lattes.cnpq.br/3300530558157881>

RESUMO: O efeito do diâmetro das gotas e do nível de água na eficiência de separação de um separador gravitacional foi testado aplicando modelos Euleriano-Euleriano, $k - \epsilon$ padrão para turbulência e a força de arrasto proposta por Grace. Como esperado, o aumento do diâmetro das gotas aumenta a eficiência de separação. O diâmetro de corte do separador foi estimado em 414,83 μm e o nível ótimo de água no separador ocorre em 0,4 m. Os resultados apresentam boa concordância com a literatura, indicam uma correta modelagem do sistema e mostram a capacidade da CFD em fornecer importantes informações do processo de separação gravitacional água-óleo.

PALAVRAS-CHAVE: CFD, Separação Gravitacional, Dispersão Água-Óleo.

APPLICATION OF CFD IN THE STUDY OF DROP DIAMETER AND WATER LEVEL EFFECT ON GRAVITATIONAL WATER-OIL SEPARATION

ABSTRACT: The effect of the droplet diameter and water level on the separation efficiency of a gravitational separator was tested applying Eulerian-Eulerian model, standard $k - \epsilon$ model for turbulence and the drag force model proposed by Grace. As expected, increasing droplet diameter increases the separation efficiency. The separator cutting diameter was estimated at 414.83 μm and the optimum water level in the separator is 0.4 m. The results are in good agreement with literature, indicate a correct modeling of the system and show the ability of the CFD to provide important information on the water-oil gravitational

separation process.

KEYWORDS: CFD, Gravitational Separation, Water-Oil Dispersion.

1 | INTRODUÇÃO

A presença de água causa vários problemas para a indústria do petróleo, como aumento da viscosidade, problemas de corrosão, entupimento de tubulações, dificuldade no tratamento, superdimensionamento de equipamentos e envenenamento de catalisadores nas refinarias devido aos sais dissolvidos, que diminuem a rentabilidade do processo. A primeira etapa de separação é feita nos separadores gravitacionais, que são grandes equipamentos projetados para acomodar os fluidos, fornecer tempo suficiente para a separação ocorrer e permitir variações do fluxo na entrada sem diminuir a eficiência de separação. Geralmente são dotados de dispositivos internos como placas defletoras, placas coalescedoras, eliminadores de névoas e outros que aumentam a eficiência de separação (Kunert, 2007). A atuação desses separadores é fortemente dependente das condições operacionais, do padrão de fluxo dentro do equipamento, da fração volumétrica e do tamanho das gotas dispersas. Aumentar o entendimento das variáveis que interferem na eficiência de separação é crucial para melhorar o desempenho do processo (Lucas et al., 2009). A Fluidodinâmica Computacional (CFD) é uma poderosa ferramenta de baixo custo e alta flexibilidade que permite alcançar muitas informações importantes para um bom desempenho deste equipamento (Kharoua, 2013). Entretanto, a modelagem matemática da separação gravitacional água-óleo é bastante complexa e demanda elevado esforço e tempo computacional, levando muitos autores a desconsiderarem os fenômenos de quebra e coalescência das gotas (Chen *et al.*, 2015; Abdulkadir e Perez, 2010). Neste sentido, o presente estudo apresenta a modelagem matemática da separação água-óleo usando o software ANSYS Fluent 15.0, combinando os modelos Euleriano-Euleriano, $k - \epsilon$ padrão para turbulência e a força de arrasto proposta por Grace (Clift *et al.*, 1978). Os efeitos de diâmetro de gota e do nível de água na eficiência de separação foram avaliados para o separador estudado e os resultados comparados com dados da literatura.

2 | METODOLOGIA

O separador usado no presente trabalho consiste em cilindro com 1,2 m de diâmetro e 5,2 m de comprimento. O fluido entra por uma tubulação de diâmetro e comprimento de 0,1 metros, localizada no centro da face do cilindro. As saídas de água e óleo estão a 0,025 m do fundo e do topo do separador, com tubulações de 0,1 m de comprimento e diâmetro de 0,05 m.

2.1 Modelagem matemática

A abordagem Euleriana utilizada para modelar o escoamento multifásico resolve um conjunto de equações de continuidade e quantidade de movimento para cada fase assumindo uma distribuição monodispersa. O modelo de Grace (ANSYS, 2017) foi aplicado para a força de arrasto por considerar a deformação das gotas. O processo de separação gravitacional exige baixa turbulência para evitar perturbações na interface dos líquidos e que misturas ocorram. Assim, o modelo $k - \varepsilon$ padrão foi utilizado por sua conhecida robustez, simplicidade, boa precisão, baixo custo computacional e capacidade de descrever diversas aplicações industriais, além de ser bem estabelecido na literatura (Kharoua, 2013; Abdulkadir e Perez, 2010). As hipóteses de escoamento isotérmico e incompressível foram adotadas.

Condições de contorno: Nas paredes a condição “*no slip*” foi selecionada e um plano de simetria foi aplicado para reduzir o esforço computacional. A condição “*mass flow inlet*” foi usada na entrada e na saída de água e “*pressure outlet*” na saída de óleo. Em todas as simulações as taxas mássicas na entrada foram 4,732 kg/s para o óleo e 0,468 kg/s para a água, que corresponde a uma fração volumétrica de água de 8%. Para manter o nível de água no separador, a saída foi fixada em 0,468 kg/s. A intensidade turbulenta e o diâmetro hidráulico na entrada e na saída de água foram, respectivamente, 1% e 0,1 %.

Condição inicial: Em todas as simulações o nível de água inicial foi de 0,5 m e o restante preenchido de óleo para facilitar a convergência numérica.

Propriedades físicas do sistema: As massas específicas e as viscosidades dinâmicas foram, respectivamente, 998,2 kg/m³ e 1,000 mPa.s para a água e 18,151 mPa.s e 869,3 kg/m³ para o óleo. A tensão superficial usada foi de 0,024 N/m, que é um valor típico de óleos leves.

Abordagem numérica: A eficiência de separação em função do número de elementos foi usada para o teste de independência da malha com gotas de 900 μm . Nas cinco malhas testadas, os dois maiores refinamentos forneceram, respectivamente, 95,95% e 96,78% de eficiência de separação. Assim, optou-se pela malha de menor número de elementos e nós (111709 e 23728, respectivamente). O esquema implícito no regime transiente foi aplicado com 2500 passos de tempo de 0,2 s. Na discretização do termo advectivo da equação da quantidade de movimento, usou-se *Upwind* de segunda ordem e *Upwind* de primeira ordem nas demais equações com o esquema *Simple* descrevendo o acoplamento pressão-velocidade. Para a convergência numérica, os fatores de sub-relaxação de pressão, momento, k e ε foram, respectivamente, 0,7, 0,3, 0,4 e 0,4. O critério de convergência utilizado foi de 10^{-4} para os resíduos da equação da continuidade e 10^{-3} para os demais parâmetros.

Parâmetros estudados: O efeito do diâmetro das gotas (d) na eficiência de separação (S) foi testado usando diâmetros de 300, 500, 700, 900 e 1000 μm , mantidos constantes em cada simulação com o nível inicial de água em 0,5 m. Posteriormente, o nível foi variado em 0,4, 0,5 e 0,6 m mantendo as gotas em 900 μm . No presente trabalho, o valor de S foi calculado conforme Equação 1:

$$S = \frac{\alpha_{\text{água}}^{\text{entrada}} - \alpha_{\text{água}}^{\text{saída de óleo}}}{\alpha_{\text{água}}^{\text{entrada}}} \times 100\% \quad (1)$$

Onde $\alpha_{\text{água}}^{\text{entrada}}$ e $\alpha_{\text{água}}^{\text{saída de óleo}}$ são as frações volumétricas de água na entrada e na saída de óleo, respectivamente.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os padrões de escoamento em termos da fração volumétrica para os níveis 0,5 (abaixo) e 0,6 metros (acima) de água são apresentados na figura 2. O perfil mostra o óleo (vermelho) ocupando a parte superior e a água (azul) a parte inferior com uma camada intermediária de gotas compactadas acima da interface água-óleo. O separador apresentou o padrão desejado de fluxo uniforme e pouco turbulento, confirmado pelo baixo número de Reynolds para o óleo (23,16) e para a água (445). Um padrão semelhante foi observado por Abdulkadir e Perez (2010) ao usar gotas de 1 mm e velocidade inicial de 0,5 m/s, mostrando boa concordância com os resultados destes autores.

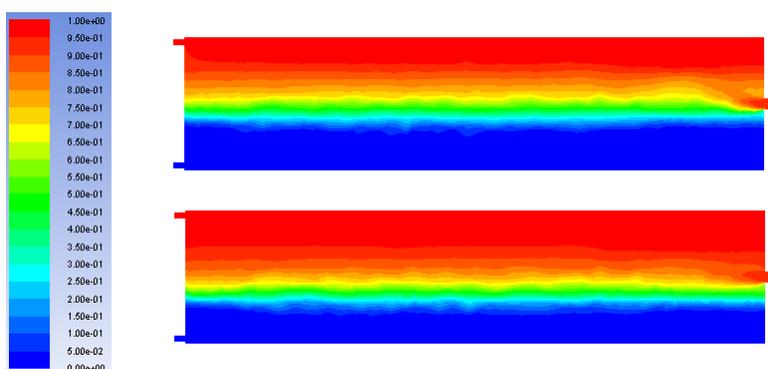


Figura 2: Perfil do separador pela fração volumétrica das fases ao final da simulação: embaixo o nível é de 0,5 metros e em cima 0,6 metros de água com gotas de 900 μm .

Os resultados apresentados na Tabela 1 mostram que a atuação de um separador gravitacional é fortemente dependente do tamanho de gotas, onde a maior eficiência alcançada foi de 98,07% para gotas de 1000 μm . Como esperado,

o aumento de d aumenta S pela maior ação gravitacional e está de acordo com os resultados de Abdulkadir e Perez (2010), que também observaram diferenças significativas ao testarem gotas de 250 e 500 μm .

d (μm)	300	500	700	900	1000
S (%)	-52,74	22,96	79,75	95,95	98,07

Tabela 1: Valores da eficiência de separação em função do diâmetro de gota.

O ajuste exponencial de S em função de d é mostrado na Figura 3, que estima o diâmetro de corte do separador em 414,83 μm , acima do qual a separação das fases se inicia. Este valor está dentro da faixa de diâmetros comumente estudados na literatura, que costumam variar de 100 a 3000 μm (Kharoua, 2013; Abdulkadir e Perez, 2010).

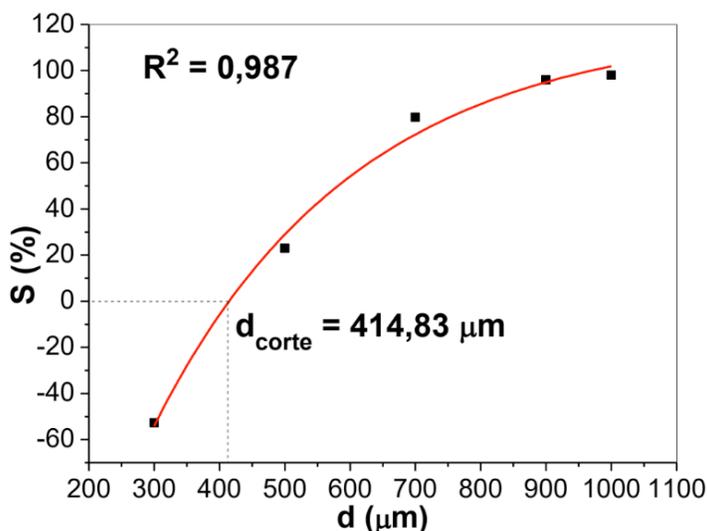


Figura 3: Eficiência de separação em função do diâmetro da gota.

O nível de água no separador (h_a) também é uma importante variável que afeta a eficiência de separação. Observa-se na figura 2 que o fluxo na entrada promove pouco arrasto nas gotas de água acima da interface água-óleo para o nível 0,5 metros. No entanto, no nível de 0,6 metros claramente o arrasto é mais pronunciado, responsável por diminuir a eficiência de separação. Portanto, o aumento de h_a diminui o valor de S , pois mais gotas de água são arrastadas para a saída de óleo. Para o separador estudado, o nível de melhor eficiência de separação

ocorreu em 0,4 m com gotas de 900 μm , como mostra a Tabela 2.

h_a (m)	0,4	0,5	0,6
S (%)	97,53	95,95	92,74

Tabela 2: Valores da eficiência de separação em função do nível de água no separador.

4 | CONCLUSÃO

Os efeitos do diâmetro de gota e do nível de água na eficiência de separação de uma dispersão água-óleo foram estudados aplicando os modelos Euleriano-Euleriano, $k - \varepsilon$ padrão para turbulência e a força de arrasto proposta por Grace. O separador gravitacional estudado apresentou um fluxo uniforme e pouco turbulento. Como esperado, o aumento do diâmetro das gotas aumentou a eficiência de separação, apresentando boa concordância com valores na literatura. O diâmetro de corte estimado para este separador foi de 414,83 μm , que está dentro da faixa de atuação deste tipo de equipamento. Para o separador estudado, o nível de água de melhor eficiência de separação ocorreu em 0,4 m. Finalmente, trabalhos futuros deverão considerar a quebra e a coalescência das gotas por meio da Equação de Balanço Populacional (EBP) e verificar o efeito de outros parâmetros, como a fração volumétrica, distribuição do tamanho de gotas, a viscosidade do óleo e as condições de entrada na eficiência do separador.

REFERÊNCIAS

ABDULKADIR, M.; PEREZ, V. H. **The Effect of Mixture Velocity and Droplet Diameter on Oil-water Separator using Computational Fluid Dynamics (CFD)**. *International Journal of Chemical, Molecular, Nuclear, Materials and Metallurgical Engineering*, v. 4(1), p. 6990– 6999, 2010.

ANSYS Inc. **Fluent User Guide and Fluent Theory Guide**, version 15.0, 2017.

CHEN, L.; WU, S.; LU, H.; HUANG, K.; ZHAO, L. **Numerical simulation and structural optimization of the inclined oil/water separator**. *PLoS ONE*, v. 10(4), p. 1 – 15, 2015.

CLIFT, R.; GRACE, J. R.; WEBER, M. E. **Bubbles, Drops, and Particles**. Academic Press, New York, 1978.

KEFALAS, P. I.; MARGARIS, D. P. **Numerical Analysis of Fluid Flow in a Compact Phase Separator**. *The Open Mechanical Engineering Journal*, v. 2, p. 21-31, 2008.

KHAROUA, N. KHEZZAR, L. SAADAWI, H. **CFD modeling of a horizontal three-phase separator: A population balance approach**. *American Journal of Fluid Dynamics*, v. 3(4), p. 101-118, 2013.

KUNERT, R. **Processamento primário de petróleo**. Universidade Petrobras, Escola de Ciências e Tecnologia, Rio de Janeiro, 2007.

LUCAS, E. F.; MANSUR, C. R. E.; SPINELLI, L. S.; QUEIROS, Y. G. C. **Polymer science applied to petroleum production**. *Pure and Applied Chemistry*, v. 81(3), p. 473-494, 2009.

CAPÍTULO 6

AROMATERAPIA COM ÓLEO YLANG-YLANG (*Cananga odorata*) E PERCEPÇÃO DE BEM-ESTAR EM MULHERES CLIMATÉRICAS

Data de aceite: 01/09/2020

Edna Maria Lemos e Silva Gualberto

Universidade Federal do Pará, UFPA
<http://lattes.cnpq.br/5400152205764728>

Maria da Conceição Ferreira Baia

UFPA
Faculdade Integrada Colégio Moderno –
FICOM/PA
<http://lattes.cnpq.br/0060381612683372>

Claudia Chagas de Pontes

Universidade da Amazônia – UNAMA

Roseane Rodrigues Siqueira

UNITAU/SP

RESUMO: A aromaterapia utilizando o óleo de *ylang-ylang* tem sido referida na literatura científica como contribuindo para minimizar sintomas de ansiedade e melhorar a sensação de bem-estar. O presente projeto pretende verificar a percepção de melhoria dos sintomas manifestos por mulheres em climatério. Estudo transversal, qualitativo, descritivo num período de 60 dias de aromaterapia com o óleo de *ylang-ylang*, com o atendimento de 15 mulheres na faixa etária de 40 a 65 anos. Os resultados indicam percepção de bem-estar em mulheres climatéricas que manifestaram plenitude e desejo de continuar a viver, independente dos sintomas manifestos, pois aprenderam a se aceitar como mulheres.

PALAVRAS-CHAVE: Aromaterapia, Óleos Essenciais, Ylang-ylang, Climatério, Práticas Integrativas Complementares.

AROMATHERAPY WITH YLANG-YLANG OIL (*Cananga odorata*) AND WELL-BEING PERCEPTION IN CLIMATE WOMEN

ABSTRACT: Aromatherapy using ylang-ylang oil has been referred to in the scientific literature as contributing to minimize anxiety symptoms and improve the sense of well-being. The present project intends to verify the perception of improvement of the symptoms manifested by women in climacteric. A cross-sectional, qualitative, descriptive study in a 60-day period of aromatherapy with ylang-ylang oil, with the attendance of 15 women in the age group of 40 to 65 years. The results indicate a perception of well-being in climacteric women who showed their fullness and desire to continue living, regardless of the manifest symptoms, since they learned to accept themselves as women.

KEYWORDS: Aromatherapy, Essential Oils, Ylang-ylang, Postmenopausal, Complementary Integrative Practices.

1 | INTRODUÇÃO

Como bastante difundido, pelo conhecimento dos últimos censos, a população brasileira segue a tendência mundial de envelhecimento e de acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2017), a expectativa de vida de nossa população subiu de 75,4 anos para 75,8 anos; sendo que a idade da mulher corresponde a 79,4 anos e a do homem de 72,2 anos, proporção similar em todos os Estados brasileiros, que remetem para

um aumento progressivo de mulheres em busca por serviços de saúde (ASSUNÇÃO et al., 2017).

O climatério é um termo de origem grega (*klimater*) e significa “período crítico”, cujo termo nomeia uma fase biológica da vida da mulher que se inicia no final da vida reprodutiva até o início da fase da velhice, dos 48 aos 65 anos (BERNI; LUZ; KOHLRAUSCHA, 2007). Esse período abrange as seguintes fases: *pré-menopausa*, os anos anteriores aos distúrbios menstruais; *perimenopausa*, dura cerca de 12 meses, quando da irregularidade da menstruação; a *menopausa*, na instalação da última menstruação e a *pós-menopausa*, que dura até o final da vida da mulher (OMS, 1996).

Há uma série de mudanças nos eventos endócrinos naturais para adaptar o corpo a essas alterações, a partir dos 35 anos de idade: o volume médio dos ovários diminui de 8 a 9 cm na menacme para 2 a 3 cm, alguns anos após a menopausa; a produção hormonal de estrogênios e androgênios, com predomínio do estradiol durante o período reprodutivo começa a oscilar até a cessação dos ciclos, com a instalação da menopausa; mantendo-se uma produção basal de estrona, androstenediona, testosterona e mínima de estradiol e progesterona; se a menopausa acontece artificialmente, pela retirada do útero ou dos ovários o processo pode acontecer a qualquer momento do ciclo, independente da idade da mulher (BRASIL, 2008).

Os sintomas apresentados durante o climatério são os fogachos e sudorese; náuseas cefaleia; dispneia, dor precordial, palpitações; formigamento, prurido, vertigens; angústias, depressão ou irritação; insônia, falta de memória; digestão difícil; cansaço lombalgia, dores articulares; os fluxos menstruais se tornam escassos ou abundantes, com ciclo ora curtos ou longos e sangramentos intermenstruais (KWAK, PARK, KANG, 2014; OMS, 1996); até se expressarem os sintomas de atrofia urogenital, como o adelgaçamento da mucosa vaginal, dispareunia no ato sexual, desaparecimento u exacerbação do desejo sexual; urgência na micção, disúria, nictúria ou incontinência urinária (OMS, 1996). Esse período de instabilidade das modificações hormonais, de fatores socioculturais e psicológicos são decorrentes do processo de envelhecimento da mulher (LEITE, 2012).

A adoção de medidas promotoras de qualidade de vida com hábitos saudáveis como alimentação equilibrada, atividade física adequada, postura proativa perante a vida, capacidade de fazer projetos, atividades culturais, sociais, profissionais, lúdicas e de lazer proporcionam saúde e bem-estar a qualquer mulher, em qualquer idade (BRASIL, 2008), de modo que sejam mantidas a capacidade funcional, a satisfação pessoal, o estado emocional e a interação social dessa mulher (DE LORENZI et al., 2009).

As terapias naturais holísticas sinalizam para uma visão da saúde

entendida como bem-estar amplo, numa interação complexa de fatores físicos, sociais, mentais, emocionais e espirituais, compreendendo que o corpo humano é um campo de energia que pode ser tratado a partir de distintos métodos, num esforço multidisciplinar, em terapia multidimensional no processo saúde/doença/cura num paradigma denominado bioenergético onde a “visão do todo” representa uma mudança no olhar dos profissionais de assistência à saúde, de maneira mais contextualizada (ANDRADE e COSTA, 2010; DE LORENZI et al., 2009).

A aromaterapia é a prática terapêutica que utiliza óleos essenciais 100% naturais, puros e completos, cujas propriedades botânicas específicas, seu método de extração e a composição química completa são conhecidas. Os óleos essenciais são compostos de autodefesa produzidos pelas plantas para sobreviverem ao meio ambiente, para repelir insetos predadores (herbívoros) e outras espécies de plantas que concorrem no espaço físico pelos nutrientes do solo e pela luz solar (WOLFFENBÜTTEL, 2016).

No Brasil, a aromaterapia tem sido de uso na prática popular, de tal maneira que o Ministério da Saúde a incorporou como terapia holística integrante da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS – PNPIC-SUS, iniciada em 2006, com a publicação da Portaria nº 702, de 21 de março de 2018, que ampliou o leque de tratamentos complementares e integrativos na atenção básica, antes de 19 práticas, acrescidas de mais 10 práticas a partir dessa portaria (BRASIL, 2006; BRASIL, 2018).

A *Cananga odorata* (Hook. F. & Thomson) é uma espécie vegetal de origem asiática cujo óleo essencial é usado em perfumaria, aromaterapia, indústria farmacêutica e indústria de alimentos (CRAVEIRO et. al., 1981). Apesar da origem asiática foi introduzido em outras regiões do mundo, sendo encontrado em países com climas tropicais úmidos, tais como: Filipinas, Indonésia, Malásia, ilhas Comores, São Tomé e Príncipe e Madagascar cuja composição do óleo essencial obtido das flores da planta apresenta acetato de benzila, benzoato de metila, cariofileno, eugenol, geraniol, linalol, pineno, entre outros (LEBOEUF et. al., 1982).

O óleo essencial é obtido pelo processo de destilação a vapor das flores. Baudoux (2018) registra a espécie botânica: *Cananga odorata*, uma árvore com cerca de 25 m de altura, mas mantida em baixa altura para facilitar a colheita das flores; sinônimos: Ylang-ylang, em inglês e Ylang-Ylang-totum, em francês (BAUDOUX, 2018). O óleo possui aroma floral doce, forte, misto de amêndoa e jasmim. Sua ação terapêutica é caracterizada como hipotensor, por ajudar a regular os ritmos cardiopulmonares; possui efeitos hidratantes, auxilia no tratamento da pele oleosa, sendo estimulante do couro cabeludo, por isso usado em hidratantes e em misturas de perfumes; possui algumas propriedades anti-infecciosas (DAMIAN e DAMIAN, 2018).

Na aromaterapia africana, o óleo essencial de ylang-ylang é utilizado com o propósito de melhorar a qualidade de vida, com efeito preventivo contra o estresse, ansiedade e depressão, promovendo uma melhora no humor por seu odor doce e agradável. É utilizado em situações de separação conjugal (depressão), podendo ainda ser utilizado em situações de transtorno de estresse pós-traumático (BIRD, 2003); essas qualidades antidepressivas, sedativas e afrodisíacas fazem com que seja indicado no climatério para o tratamento da frigidez e da impotência, no combate à insônia e aos estados de ansiedade, raiva ou histeria (DAMIAN e DAMIAN, 2018).

A substância aromáticamente apresenta algumas características especiais: ser volátil, ser hidrossolúvel, ser lipossolúvel WOLFFENBÜTTEL (2016). Os principais métodos para uso dos óleos essenciais são: o difusor, para tratar condições pulmonares; massagens, banhos, fricção no corpo (dor muscular e reumatismo); em compressas, máscaras, loções, cremes para uso facial e cosmético e no couro cabeludo. O uso interno, apenas sob prescrição médica, para fazer a inalação por contato próximo ao nariz ou usando o aromatizador (LAVABRE, 2018).

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa e tratamento foram aplicados a 15 mulheres, com idades entre 40 a 65 anos, residentes no município de Belém do Pará, que atenderam a divulgação telefônica em rede social; para esclarecimento e sensibilização participaram de palestras sobre Climatério e Aromaterapia: conceito, história e apresentação da técnica. De 21 mulheres presentes na primeira atividade, 18 aderiram; de seis (6) mulheres na segunda atividade, cinco (5) aderiram. O trabalho pesquisa e aromaterapêutico foi realizado com 23 mulheres, que assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, mas ao final oito (8) foram excluídas da análise, por não terem participado de um mínimo de sete (7) sessões terapêuticas com o óleo de ylang-ylang.

O estudo de natureza transversal, quantitativo, descritivo foi realizado durante sessões terapêuticas aplicada a 15 mulheres voluntárias na fase do climatério, idade entre 40 a 65 anos, num período de 60 dias, residentes do município de Belém do Pará; as participantes assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, após o qual aplicou-se dois questionários estruturados para coleta de dados de identificação de vinculação à pesquisa e sintomas do climatério; além de anotações livres referidas pelas voluntárias. As questões objetivas do questionário clínico, redigidas em linguagem simples, abordaram se os sintomas do climatério estavam presentes ou ausentes. A terapeuta fazia registro da percepção do bem-estar das sensações/emoções e também dos aspectos físicos relatados pelas mulheres.

A metodologia utilizada para a finalidade do trabalho foi a aplicação de

óleo essencial ylang-ylang (*Cananga odorata*), a custo zero para as voluntárias, durante todo o tratamento, cada uma recebendo um frasco contendo 5 ml do óleo essencial (Terra Flor®). Antes do tratamento, as mulheres tiveram avaliação médica para caracterização da história clínica, fase do climatério. Com o encaminhamento médico, eram aplicados dois questionários prévios ao tratamento (identificação pessoal e dados clínicos) e procedido o agendamento das sessões terapêuticas; após cada sessão clínica, no intervalo de 5 (cinco) a 7 (sete) dias era agendada a sessão seguinte, respeitando a disponibilidade da voluntária, considerando-se para a análise apenas as que fizeram, no mínimo, 7 (sete) sessões aromaterapêuticas.

Como cada voluntária recebeu um frasco dosador com 5 ml do óleo de ylang-ylang, orientando-se para aplicação de uma gota do óleo essencial na planta dos pés, três (3) vezes ao dia; na impossibilidade, uma (1) vez, antes de dormir. Para uso espontâneo diário, foi doado um colar aromático, com quantidade à critério da voluntária. Nas sessões terapêuticas, com duração mínima de 20 minutos, a mulher ficava deitada sobre maca, em decúbito ventral, sendo-lhe aplicado 3 (três) gotas de óleo essencial de ylang-ylang ao longo da coluna vertebral, depois espalhado com movimentos suaves; após a sessão, preenchia um questionário para registro de dados objetivos e respondia à terapeuta sobre os sintomas/sensações que sentia durante a aplicação, incluído o uso contínuo semanal; as falas eram registradas, bem como a impressão da pesquisadora sobre o comportamento e emoções que essa mulher exteriorizava.

Os dados foram registrados em planilha eletrônica, geraram banco de dados, expressaram resultados em tabelas e gráficos e possibilitaram a análise descritiva. A revisão da literatura foi baseada em artigos científicos levantados nas plataformas de pesquisa científica (SciELO, Biblioteca Virtual em Saúde, Medline), legislação federal e manuais do Ministério da Saúde.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 23 mulheres que aderiram ao tratamento uma delas, com 55 anos, apresentou alergia ao óleo de ylang ylang (*Cananga odorata*) na segunda sessão e foi suspensa da pesquisa; outra com 65 anos, na primeira sessão terapêutica apresentava dermatite de contato, sem condições clínicas para iniciar o tratamento; ao final do período de aplicação terapêutica, seis (6) mulheres que fizeram apenas cinco sessões e seus dados não foram considerados para análise final. Ao final, só foram considerados os dados de 15 mulheres.

As questões objetivas do questionário clínico foram redigidas em linguagem simples, foram abordados sintomas do climatério, buscando-se saber se presentes ou ausentes. Depois, questionado pela terapeuta, fez-se o registro da percepção do

bem-estar das sensações/emoções e também dos aspectos físicos relatados pelas mulheres, que usaram o óleo essencial de ylang ylang durante a semana e logo após a sessão terapêutica. E, nesse momento, as pesquisadoras questionavam sobre melhora ou não dos sintomas e quais as emoções/sensações de bem-estar percebidas por essas mulheres. O questionário clínico da pesquisa apresenta relação de sinais e sintomas que se assemelham aqueles pesquisados por Kwak, Park e Kang (2014), mas estes autores expandiram seu questionamentos para níveis de conhecimentos da mulher sobre a menopausa, sobre as atitudes diante dos sintomas e como a mulher de meia-idade em atividade econômica ativa administrava a sintomatologia e o seu dia-a-dia profissional.

No Gráfico 1 expressa-se os dados sobre sintomas vasomotores manifestos pelas mulheres, da primeira à sétima sessão aromaterapêutica, onde se observa que as ondas de calor (fogachos) sofreram regular redução na sua manifestação, com leves oscilações, tais quais observados por Miranda; Ferreira; Contente (2014), que apenas estudou as manifestações típicas do climatério.

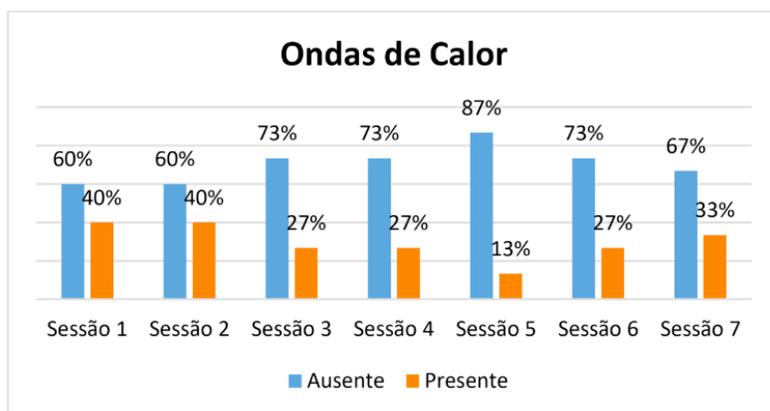


Gráfico 1: Ondas de Calor.

Fonte: Dados da pesquisa

No Gráfico 2 expressam-se os dados sobre sintomas de insônia, no qual se verifica que há uma evolução gradual para ausência da manifestação, à medida que o tratamento com o óleo essencial ylang-ylang evolui; dados similares são registrados por Miranda; Ferreira; Contente (2014), diante de procedimentos terapêuticos diferente do uso de óleo essencial, com a terapia de reposição hormonal e não holística, como a presente proposta.

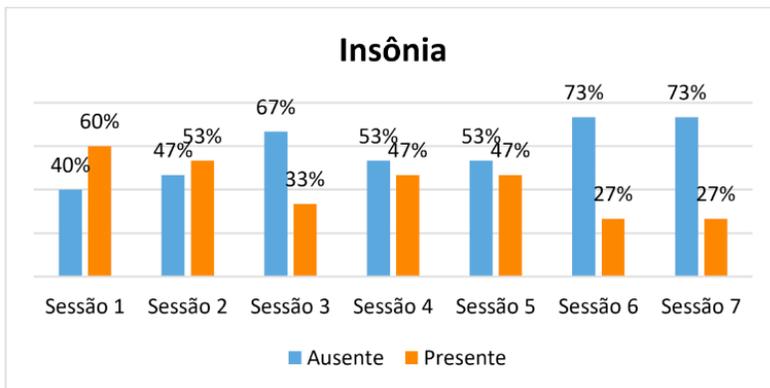


Gráfico 2: Insônia.

Fonte: Dados da pesquisa.

No Gráfico 3 são observados os dados manifestados para ansiedade, onde a sintomatologia se mostra resistente nas duas primeiras sessões e gradativamente declina nas três últimas sessões, com a aplicação do ylang-ylang. Gnatta et al. (2011) verificaram em seu estudo piloto que esse óleo essencial é aplicável ao tratamento para redução da ansiedade.

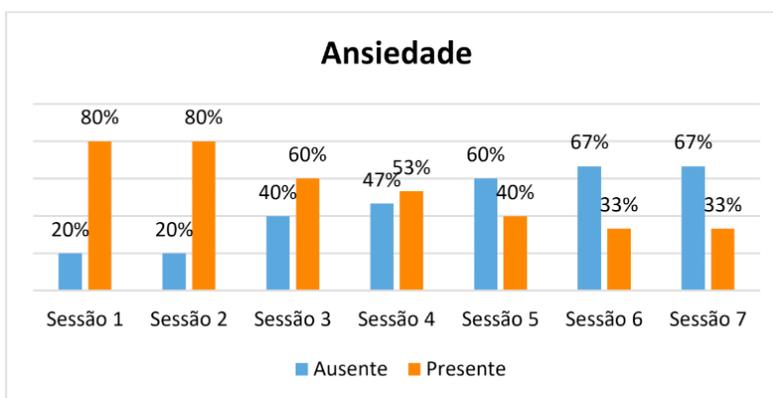


Gráfico 3: Ansiedade.

Fonte: Dados da pesquisa.

No Gráfico 4 os dados expressam a resposta das voluntárias à manifestação da libido e os resultados não são muito significativos. Damin e Damian (2018) indicam o uso do ylang-ylang para o tratamento da frigidez e da impotência sexual; contudo, Tan et al. (2011) verificaram que o óleo tem efeitos espermatóxicos, o que

recomenda ser inadequado para uso pelo homem, face à possibilidade de inibir a fertilização, por destruir os espermatozoides.

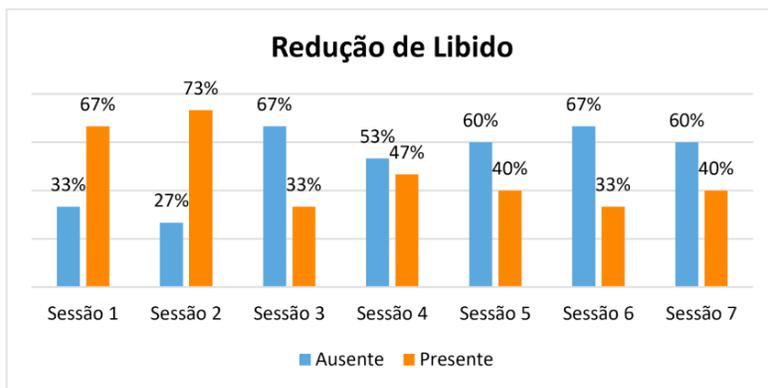


Gráfico 4: Redução da libido.

Fonte: Dados da pesquisa.

Numa visão geral dos sintomas holísticos e emocionais, no Gráfico 5 observam-se as manifestações de bem-estar, auto-estima e boa dormida, com significativa melhora, resultados semelhantes foram observados no estudo de Gnatta et al. (2011).

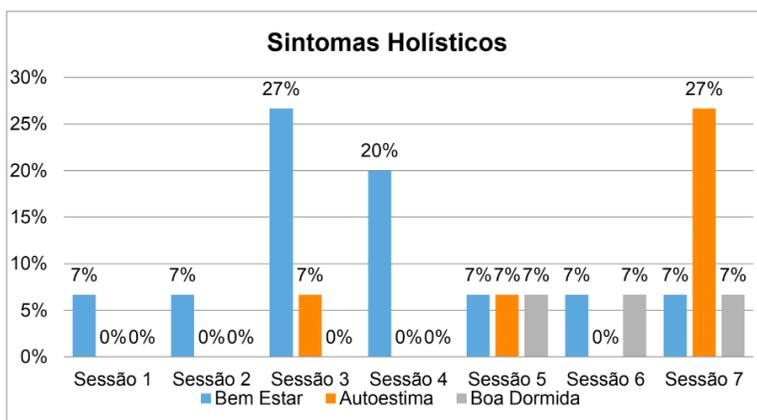


Gráfico 5: Sintomas holísticos/emocionais.

Fonte: Dados da pesquisa.

4 | CONCLUSÕES

Pelos resultados da pesquisa desenvolvida com o uso do óleo ylang-ylang (*Cananga odorata*) foi possível registrar que o tratamento ameniza os sintomas e a manifestação emocional foi significativa, pela percepção de bem-estar em mulheres climatéricas que manifestaram plenitude e desejo de continuar a viver, independente dos sintomas manifestos, pois aprenderam a se aceitar como mulheres.

REFERÊNCIAS

ASSUNÇÃO, D. F. S.; PIRES, D. H. K.; BARRETO, E. L. et al. Qualidade de vida de mulheres climatéricas. *Rev. Soc. Bras. Clin. Med.* 2017, abr-jun; 15(2):80-3.

ANDRADE, J. T.; COSTA, L. F. A. Medicina complementar no SUS: Práticas Integrativas e Complementares sob a luz da antropologia médica. *Saúde Soc. São Paulo*, 19(3):497-508, 2010.

BALDOUX, D. O grande manual da aromaterapia de Dominique Baloux; [Tradução: Mayra Corrêa e Castro], Belo Horizonte: Editora Laszlo, 2018.

BERNI, N. I. O.; LUZ, M.H.; KOHLRAUSCHA, S. C. Conhecimento, percepções e assistência à saúde da mulher no climatério. *Rer.Bras.enferm.* v.60 n.3. Brasília. maio/junh.2007.

BIRD, S. R. African aromatherapy: past, present and future applications. *The International Journal of Aromatherapy.* v.13, n.4, p.185-195, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Atenção Básica. Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS – PNPIC–SUS. Brasília: MS/DAB, 2006. (Série B – Textos Básicos de Saúde).

BRASIL, Ministério da Saúde. Manual de atenção à mulher no climatério/menopausa. Brasília: MS-SAS, 2008. (Série: Normas e Manuais Técnicos. Direitos Sexuais e Direitos Reprodutivos. Caderno n. 9). p.192.

BRASIL, Ministério da Saúde. Portaria nº 702, de 21 de março de 2018. Altera a Portaria de Consolidação nº 2/EM/MS, de 28 de setembro de 2017, para incluir novas práticas na Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares – PNPIC. Ministério da Saúde.

CRAVEIRO, A. A.; FERNANDES, A. G.; ANDRADE, C. H. S.; MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W.; MACHADO, M. I. L. Óleos essenciais de plantas do nordeste. 1ª ed., Fortaleza: Edições UFC, 1981.

DAMIAN, P.; DAMIAN, Kate. Aromaterapia-Aroma e psique. O uso dos óleos essenciais para o bem-estar psicológico e físico. [Tradução Eliana Chiocheti]. Belo Horizonte: Editora Laszlo, 2018.

DE LORENZI, D.R.S.; CATANI, L.B.; MOREIR, K; ÁRTICO.R. Assistência à mulher climatérica: novos paradigmas. *Ver. Bras. Enferm, Brasília.* V.62, n.2, p.287-83, mar-abril. 2009.

GNATTA, J. R.; PIASON, P. P.; LOPES, C. L. B. C. et al. Aromaterapia com *ylang ylang* para ansiedade e autoestima: estudo piloto. Rev Esc Enferm USP, São Paulo, 2014; 48(3):492-9.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia Estatística. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/>. Acesso em dez.2018.

KWAK, E. K.; PARK, H. S.; KANG, N. M. Menopause knowledge, attitude, symptom and management among midlife employed women. J Menopausal Med. 2014 Dec;20(3):118-125.

KWAK, E. K.; PARK, H. S.; KANG, N. M. Menopause knowledge, attitude, symptom and management among midlife employed women. J Menopausal Med. 2014 Dec;20(3):118-125.

LAVABRE, M. Aromaterapia: A cura pelos óleos essenciais [Tradução: Cecília Barbosa], Belo Horizonte: Editora Laszlo, 2018.

LEBOEUF, M.; CAVÉ, A.; BHAUMIK, P. K.; MUKERJEE, B.; MUKHERJEE, R. The phytochemistry of the Annonaceae. Phytochemistry, v.21, n.12, p.2783-2813, 1982.

LEITE, E. S.; OLIVEIRA, F. B.; MARTINS, A. K. L. et al. Perspectivas de mulheres sobre o climatério: conceitos e impactos sobre a saúde na Atenção Básica. R. pesq.: cuid. fundam.; online 2012; out./dez. 4(4):2942-52. Acesso: 08. Dez. 2018.

WOLFFENBÜTEL, A. N. Base da Química dos Óleos Essenciais e Aromaterapia: Abordagem técnica e científica. 2ª ed. ampl. Belo Horizonte/MG: Laszlo, 2016. 466 p.

MIRANDA, J. S.; FERREIRA, M.L. S.; CORRENTE, J. E. Qualidade de vida em mulheres no climatério atendidas na Atenção Primária. Rev Bras Enferm. 2014 set-out;67(5):803-9.

OMS. Organización Mundial de la Salud. Investigaciones sobre la menopausa en los años noventa: informe de un grupo científico de la OMS. Ginebra: OMS; 1996. (OMS, Serie de informes técnicos, nº 866; 130p. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/41984>.

TAN, L. T. H.; LEE, L. H.; Yin, W. F. et al. Traditional Uses, Phytochemistry, and Bioactivities of *Cananga odorata* (Ylang-Ylang). Evid Based Complement Alternat Med. 2015: ID 896314.

DESCOLORAÇÃO FÚNGICA DE CORANTES TÊXTEIS

Data de aceite: 01/09/2020

Data de submissão: 06/07/2020

Mayara Thamela Pessoa Paiva

Universidade Estadual de Londrina – UEL
Londrina – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/3971164522654001>

Fabiana Guillen Moreira Gasparin

Universidade Estadual de Londrina – UEL
Londrina – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/6858095034067359>

Suely Mayumi Obara Doi

Universidade Estadual de Londrina – UEL
Londrina – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/8961225162470777>

RESUMO: A descoloração de dois corantes, Remazol Brilliant Blue RN (RBBR) e Remazol Azul BTE BB 133% (RA133), foi avaliada em seis diferentes meios de cultivo, três deles com resíduos lignocelulósicos, empregando os fungos *Pleurotus ostreatus*, *Laetiporus gilbertsonii* e um isolado não identificado denominado MB19-50. Para o corante RBBR obteve-se níveis de descoloração de 97,24% com o *P. ostreatus*, 87,87% com o *L. gilbertsonii* e 80% com o MB19-50. Para o corante RA133 o *P. ostreatus* descoloriu 99,44%, o *L. gilbertsonii* 83,12% e para o MB19-50 não ocorreu descoloração. A atividade das principais enzimas ligninolíticas, lacase (LaC), manganês peroxidase (MnP) e lignina peroxidase (LiP) foi avaliada para os três fungos, o *P. ostreatus* apresentou atividade

21,96 U/mL e 1,07 U/mL de LaC para os meios de cultivo contendo os corantes RA133 e RBBR, respectivamente. O *L. gilbertsonii* não apresentou atividade de LaC em nenhuma das condições de cultivo. O isolado MB19-50 apresentou atividade de 3,74 U/mL somente na presença do RA133. Os três fungos apresentaram atividade de MnP, o *P. ostreatus* apresentou 14,38 U/mL e 42,59 U/mL, para os corantes RA133 e RBBR, respectivamente. O fungo *L. gilbertsonii* na presença do RA133 apresentou 27,94 U/mL e para o RBBR 15,53 U/mL de atividade. O MB19-50 apresentou atividade de MnP de 12,77 U/mL e 36,77 U/mL, para os corantes RA133 e RBBR, respectivamente. Nenhum dos três fungos apresentou atividade para LiP.

PALAVRAS-CHAVE: Descoloração, *Pleurotus ostreatus*, *Laetiporus gilbertsonii*, Adsorção. Corantes.

FUNGAL DECOLORIZATION OF TEXTILE DYES

ABSTRACT: The decolorization of two dyes, Remazol Brilliant Blue RN (RBBR) and Remazol Azul BTE BB 133% (RA133), was evaluated in six different culture media, three of them with lignocellulosic residues, applying the fungi *Pleurotus ostreatus*, *Laetiporus gilbertsonii* and one unidentified isolate named MB19-50. For the RBBR dye, decolorization levels of 97,24 % were obtained with *P. ostreatus*, 87,87% with *L. gilbertsonii* and 80% with MB19-50. For the dye RA133, the *P. ostreatus* decolorized 99,44 %, the *L. gilbertsonii* 83,12 % and for the MB19-50 no decoloration was noticed. The activity of the

main lignolytic enzymes, laccase (LaC), manganese peroxidase (MnP) and lignin peroxidase (LiP) was evaluated for the three fungi, the *P. ostreatus* showed activity of 21,96 U / mL and 1,07 U / mL of LaC for the dyes RA133 and RBBR, respectively. The *L. gilbertsonii* did not show LaC activity under any of the cultivation conditions. The MB19-50 isolate showed an activity of 3,74 U / mL only in the presence of RA133. The MnP enzyme showed activity for the three fungi, the *P. ostreatus* showed 14,38 U / mL and 42,59 U / mL, for the dyes RA133 and RBBR, respectively. The fungus *L. gilbertsonii* in the presence of RA133 showed 27,94 U / mL and for the RBBR 15,53 U / mL of activity. MB19-50 showed MnP activity of 12,77 U / mL and 36,77 U / mL, for the dyes RA133 and RBBR, respectively. The LiP enzyme showed no activity for any of the three fungi.

KEYWORDS: Decoloration, *Pleurotus ostreatus*, *Laetiporus gilbertsonii*, Adsorption, Dyes.

1 | INTRODUÇÃO

O abastecimento de água, num primeiro momento, parece infinito se levarmos em consideração que a quantidade de água livre sobre a terra atinge 1.370 milhões km³. Essa perspectiva muda totalmente quando consideramos que 97 % é composta por água salgada, inutilizável para consumo humano. O cenário é ainda mais grave quando 3% da água doce existente, somente 0,3 %, aproximadamente, é aproveitável. Ou seja, somente um total de 98.400 km³ (rios e lagos) e 4.050.800 km³ (lençol-freático) estão disponíveis para utilização da população total da Terra (FUNASA, 2004).

No cenário atual, a indústria têxtil é um dos maiores consumidores de água, se comparado com outros segmentos industriais. Além disso, é a grande responsável por um número elevado de despejo irregular de efluente em corpos de água. Estima-se que entre 10 a 15 % do total de corante usado no processo de tingimento possa ser encontrado nas águas residuais (PENDEY; TEWARI; TEWARI, 2018). Os corantes quando presentes no sistema aquoso afetam a passagem da luz solar nas camadas mais profundas, alteram o ciclo biológico e assim a atividade fotossintética e concentração de oxigênio, causando problemas para flora e fauna aquáticas. A grande parte dos corantes liberados nos efluentes possuem altos níveis de toxicidade, capacidade cancerígena ou mutagênica para humanos e outras formas de vida. Os corantes sintéticos se enquadram na categoria de poluentes emergentes, ou seja, não possuem um sistema de monitoramento pelos órgãos ambientais (LALNUNHLIMI; KRISHNASWAMY, 2016).

Devido a esta demanda ambiental, muitos estudos e tecnologias tem sido desenvolvidas a fim de minimizar estes problemas, como é o caso da biorremediação. A utilização de microrganismos capazes de degradar esses poluentes tem sido

cada vez mais o objeto de muitas pesquisas no mundo todo, a fim de procurar processos mais eficazes e econômicos. Os fungos, em específico, possuem muitas vantagens pois secretam algumas enzimas com baixa especificidade, o que abrange uma diversidade maior de contaminantes (PANDEY; TEWARI; TEWARI, 2018). A remoção de corantes pode ser obtida através de biodegradação, biotransformação ou adsorção em biomassa (PRZYSTAŚ; ZABŁOCKA-GODLEWSKA; GRABIŃSKA-SOTA, 2018).

Considerando os aspectos abordados acima, este trabalho procurou avaliar a descoloração de corantes têxteis com diferentes microrganismos, e a sua capacidade de produzir enzimas específicas que atuam no processo de descoloração.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

2.1.1 *Microrganismos*

Foram utilizados os fungos *Pleurotus ostreatus* e *Laetiporus gilbertsonii* MY-01 e o isolado fúngico MB19-50, estes dois últimos foram cedidos gentilmente pelo Prof. Dr. Marcelo Rodrigues de Melo e mantidos em meio de BDA (Ágar Batata Dextrose) (Marca Acumedia) a 4 °C.

2.1.2 *Corantes*

Comparou-se os corantes Remazol Brilliant Blue RN (RBBR) e Remazol Azul BTE BB 133% (RA133), fornecidos pela Dystar Indústria e Comércio de Produtos Químicos Ltda.

2.1.3 *Resíduos Lignocelulósicos*

Os resíduos lignocelulósicos foram obtidos a partir de: coco verde; cana de açúcar e pinhão obtidos na região de Londrina-PR.

2.2 Métodos

2.2.1 *Preparo do Inóculo*

Os fungos *Pleurotus ostreatus* e *Laetiporus gilbertsonii* MY-01 e o MB19-50 foram transferidos do meio de manutenção para uma placa de petri contendo ágar batata dextrose (BDA da Marca Acumedia) e incubados a 28 °C ± 2 °C durante 7 dias.

2.2.2 Preparo do pó de coco e cana de açúcar

As fibras de coco e o bagaço da cana foram lavados e batidos em liquidificador convencional com água deionizada até obtenção de fibras limpas, em seguida passaram por secagem em estufa aerada (Fanem - 002 CB) a 70°C e moídas.

2.2.3 Preparo do farelo das cascas de pinhão

Os pinhões foram lavados em água corrente e submetidos à fervura por aproximadamente duas horas. Em seguida as cascas foram imersas em água destilada, e novamente submetidas à fervura por aproximadamente duas horas. Posteriormente, as cascas foram lavadas novamente com água destilada e secas em estufa aerada (Fanem - 002 CB) a 70 °C e moídas.

2.2.4 Meios de cultivo

Os microrganismos foram cultivados em 6 meios cultivo diferentes: o meio 1 (meio Vogel 2%, glicose 1%, extrato de levedura e solução de corante 0,02 g%); meio 2 (meio Vogel 2%, glicose 1% e solução de corante 0,02 g%); meio 3 (meio Vogel 2%, extrato de levedura e solução de corante 0,02 g%); meio 4 (meio Vogel 2%, pó de cana 1% (PCA), extrato de levedura e solução de corante 0,02 g%); meio 5 (meio Vogel 2%, pó de coco 1% (PC), extrato de levedura e solução de corante 0,02 g%) e meio 6 (meio Vogel 2%, farelo da casca de pinhão 1% (FCP), extrato de levedura e solução de corante 0,02 g%).

O pH de todos os meios foram ajustados para 5,0 com H_3PO_4 (0,1 mol L⁻¹) ou NH_4OH (0,1 mol L⁻¹). Em seguida, todos os frascos de erlenmeyer com capacidade para 125 mL contendo 25 mL dos meios de cultivo foram autoclavados (Fabre modelo 103). Em temperatura ambiente 3 discos de micélios foram inoculados em câmara de fluxo laminar (Veco – VLFS-09). A glicose foi autoclavada separadamente do meio de cultivo, e adicionada esterilmente a cada frasco de erlenmeyer o qual foi colocado em incubadora rotatória orbital (Marconi MA 420) a 28 ± 2 °C, com 180 rpm de agitação durante um período de 7 dias, a fim de se obter o máximo de descoloração dos corantes. Todos os meios de cultivos foram analisados em triplicata.

2.2.5 Interrupção dos Cultivos

Os cultivos foram interrompidos por centrifugação refrigerada (Bolco Germani U-32R) a 4 ± 2 °C por 20 minutos a 9000 g, os sobrenadantes obtidos foram transferidos para frascos de vidro identificados com o tipo do meio de cultivo e a numeração da triplicata. Os precipitados foram depositados em tubos de fundo

cônico para determinação de biomassa por gravimetria.

2.2.6 Determinação da Biomassa

A biomassa foi removida dos tubos de fundo cônico depois da centrifugação dos meios de cultivo e pesada após a secagem em estufa aerada (Fanem - 002 CB) a 70 °C.

2.2.7 Determinação da Atividade de Lacase

A atividade da lacase foi determinada utilizando como substrato 2,6-dimetoxifenol 10 mM (DMP) (PASZCZYNSKI; HUYNH; CRAWFORD, 1985). O ensaio enzimático foi realizado com 150 μL de tampão Mcllvane (pH 5), 200 μL de água destilada, 500 μL de solução enzimática bruta ou diluída e 150 μL de substrato. A mistura reativa foi incubada em banho-maria (Fanem – 102N) a 50 °C por 5 minutos, realizou-se então as leituras em espectrofotômetro (Femto – 600Plus) a 468nm. Foram utilizados dois controles, dos quais as absorbâncias obtidas foram descontadas, o controle 1 (C1) que era o da enzima onde havia 150 μL de tampão Mcllvane (pH 5), 350 μL de água destilada e 500 μL de solução enzimática nas mesmas condições do ensaio, o controle 2 (C2) que era o do substrato, tinha 150 μL de tampão Mcllvane (pH 5), 700 μL de água destilada e 150 μL de substrato. Uma unidade de lacase foi definida como a quantidade de enzima capaz de produzir 1 μmol de DMP oxidado por min por mL de extrato enzimático nas condições de ensaio descritas através da seguinte equação:

$$U / ml = \frac{A - (C1 + C2)}{\varepsilon} \times \frac{1}{V} \times FD \times \frac{1}{t} \times 1000$$

onde $\frac{u}{mL}$ é a unidade de lacase por mL de substrato, t é o tempo de incubação, v é o volume de enzima empregado nos ensaios, Fd é o fator de diluição da solução enzimática e ε é o coeficiente de extinção molar do DMP (2,6-dimetoxifenol) equivale a 10000 mol.L⁻¹.cm⁻¹.

2.2.8 Determinação da Atividade de Manganês Peroxidase

Este ensaio foi realizado através da oxidação de 0,2 mL MnSO₄ 10 mM em 1,4 mL de tampão malonato 50 mM com pH 4,5 e 0,2 mL da solução enzimática bruta ou diluída. O tubo de ensaio contendo esta solução foi incubado em banho-maria (Fanem – 102N) a 40 °C por 5 minutos. Para iniciar a reação foi adicionado 0,2 mL de H₂O₂ 1mM. A reação foi avaliada medindo-se a absorbância da solução reacional em 270nm (ε_{270} =11590 mol.L⁻¹.cm⁻¹) contra branco (contendo 1,6 mL de tampão malonato, 0,2 mL de MnSO₄ e 0,2 mL da solução enzimática). Uma unidade

de atividade de manganês peroxidase foi definida como a quantidade de enzima requerida para produzir 1 μmol de produto, complexo formado entre íons Mn^{3+} e o malonato, por minuto (WARIISHI; VALLIS; GOLD, 1992). A determinação da atividade enzimática foi realizada conforme a equação:

$$U/ml = \frac{A}{\epsilon} \times \frac{1}{V} \times FD \times \frac{1}{t} \times 1000$$

onde $\frac{u}{mL}$ é a unidade de manganês peroxidase por mL de substrato, A é a leitura de absorbância, t é o tempo de incubação, v é o volume de enzima empregado nos ensaios, Fd é o fator de diluição da solução enzimática e ϵ é o coeficiente de extinção molar do substrato que para o malonato equivale a $11590 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.

2.2.9 Determinação da atividade de Lignina Peroxidase

O ensaio para determinação da atividade da lignina peroxidase foi baseado no método de Tien e Kirk (1984). A reação foi composta por 1,5 mL de tampão tartarato 0,1 M em pH 3; 0,2 mL de álcool veratrílico 4 mM; 0,2 mL da solução enzimática e 0,10 mL de H_2O_2 1mM. A reação ocorreu em banho-maria (Fanem – 102N) a 30 °C por 10 minutos, em seguida realizou-se a leitura da absorbância em 310nm ($\epsilon_{310} = 9,3 \times 10^3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) contra branco (contendo 1,6 mL de tampão tartarato, 0,2 mL de álcool veratrílico e 0,2 mL da solução enzimática). Uma unidade de atividade de enzimática foi determinada como a quantidade de enzima necessária para formação de 1 μmol de produto por minuto. A determinação da atividade enzimática foi realizada conforme a equação:

$$U/ml = \frac{A}{\epsilon} \times \frac{1}{V} \times FD \times \frac{1}{t} \times 1000$$

onde $\frac{u}{mL}$ é a unidade de lignina peroxidase por mL de substrato, A é a leitura de absorbância, t é o tempo de incubação, v é o volume de enzima empregado nos ensaios, Fd é o fator de diluição da solução enzimática e ϵ é o coeficiente de extinção molar do substrato que para o malonato equivale a $9,3 \times 10^3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.

2.2.10 Determinação da Porcentagem de Descoloração

A absorbância do sobrenadante dos cultivos fúngicos e dos cultivos controle (sem o fungo) foram comparados no comprimento de onda de maior absorção do corante de acordo a seguinte equação:

$$\% \text{ Descoloração} = \left(\frac{Abs_0 - Abs_t}{Abs_0} \right) \times 100$$

Onde Abs_0 é a absorbância inicial abiótica e Abs_t absorbância lida da amostra.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação da biomassa

A determinação da biomassa é um método muito eficiente, que aponta a efetividade dos meios de cultivos utilizados. A composição dos meios definidos foi selecionada afim de relacionar a importância de seus componentes com o crescimento microbiano. Na Tabela 01 e 02 apresentam-se os resultados obtidos após incubação dos fungos na presença dos corante RA133 e RBBR. Todas as determinações foram expressas com a média \pm desvio padrão das triplicatas experimentais. A análise de variância (ANOVA) foi realizada utilizando o software The R Foundation for Statistical Computing. O teste de Tukey foi utilizado para avaliar as diferenças entre as médias ($p \leq 0,05$).

RA133 (g)						
MEIOS	1	2	3	4	5	6
<i>P. ostreatus</i>	0,24 \pm 0,03 ^a	0,15 \pm 0,00 ^{bc}	0,11 \pm 0,03 ^c	0,21 \pm 0,01 ^{ab}	0,22 \pm 0,01 ^a	0,24 \pm 0,03 ^a
<i>L. gilbertsonii</i>	0,28 \pm 0,09 ^a	0,12 \pm 0,05 ^b	0,12 \pm 0,01 ^b	0,33 \pm 0,02 ^a	0,31 \pm 0,02 ^a	0,31 \pm 0,03 ^a
<i>MB19-50</i>	0,17 \pm 0,00 ^b	0,15 \pm 0,00 ^b	0,07 \pm 0,00 ^c	0,25 \pm 0,05 ^a	0,27 \pm 0,01 ^a	0,30 \pm 0,01 ^a

Tabela 01. Biomassa fúngica obtida após sete dias de incubação na presença do corante RA133. Em cada linha, os valores marcados com letras distintas indicam diferença significativa entre as médias, a nível de significância de $p \leq 0,05$.

Fonte: o próprio autor.

Na Tabela 01 estão os resultados obtidos após incubação dos fungos na presença do corante RA133. Observa-se que os fungos *P. ostreatus* e *L. gilbertsonii* demonstraram o mesmo padrão de crescimento, não apresentando diferença significativa entre os meios 1 (completo), 4 (pó de cana como fonte de carbono), 5 (pó de coco como fonte de carbono) e 6 (farelo de casca de pinhão como fonte de carbono). Os valores de biomassa variaram entre 0,21 a 0,24 g e 0,28 a 0,33 g, para *P. ostreatus* e *L. gilbertsonii*, respectivamente. O fungo MB19-50 apresentou melhor desenvolvimento nos meios 4 (pó de cana como fonte de carbono), 5 (pó de coco como fonte de carbono) e 6 (farelo de casca de pinhão como fonte de carbono), onde os valores obtidos de biomassa variaram ente 0,25 a 0,30 g.

MEIOS	RBBR (g)					
	1	2	3	4	5	6
<i>P. ostreatus</i>	0,11 ± 0,05 ^b	0,02 ± 0,00 ^b	0,06 ± 0,01 ^b	0,24 ± 0,05 ^a	0,26 ± 0,02 ^a	0,28 ± 0,02 ^a
<i>L. gilbertsonii</i>	0,09 ± 0,00 ^c	0,07 ± 0,01 ^c	0,08 ± 0,02 ^c	0,43 ± 0,02 ^a	0,43 ± 0,02 ^a	0,34 ± 0,02 ^b
<i>MB19-50</i>	0,14 ± 0,01 ^b	0,07 ± 0,04 ^b	0,08 ± 0,01 ^b	0,27 ± 0,00 ^a	0,27 ± 0,03 ^a	0,25 ± 0,01 ^a

Tabela 02. Biomassa fúngica obtida após sete dias de incubação na presença do corante RBBR. Em cada linha, os valores marcados com letras distintas indicam diferença significativa entre as médias, a nível de significância de $p \leq 0,05$.

Fonte: o próprio autor.

Na Tabela 02 apresentam-se os resultados obtidos após incubação dos fungos na presença do corante RBBR. Os três fungos não apresentaram diferença significativa entre os meios 4 (pó de cana como fonte de carbono), 5 (pó de coco como fonte de carbono) e 6 (farelo de casca de pinhão como fonte de carbono). O *P. ostreatus* apresentou valores de biomassa entre 0,24 e 0,28 g, o *L. gilbertsonii* entre 0,34 e 0,43g e o MB19-50 0,25 e 0,27 g.

De maneira geral a variação na razão C / N, nos meios 2 e 3, provou afetar o crescimento e o metabolismo celular. Já os substratos acrescidos com resíduos lignocelulósicos apresentaram maior quantidade de biomassa. Esses resíduos são ricos em fontes de micro e micranutrientes essenciais para o metabolismo celular, que se tornam disponíveis através da oxidação de moléculas orgânicas, como por exemplo a celulose (XU *et al.* 2020). Além disso, subprodutos agrícolas ou lenhosos são ótimos substratos, pois imitam o habitat natural da maioria dos fungos (MURUGESAN *et al.* 2007).

3.2 Descoloração dos corantes pelo fungo *Pleurotus ostreatus* em meio líquido

3.2.1 Remazol Brilliant Blue RN

Na Figura 01 observa-se a máxima de descoloração, 97,24 %, no meio dois (Figura 02), após sete dias de incubação. A família *Pleurotaceae* do filo basidiomycota é muito estudada por vários autores, devido a sua ampla capacidade de degradação de uma variedade de corantes. Zhuo *et al.* (2019) alcançaram 84,90 % de descoloração do mesmo corante empregado neste estudo, após 24 horas de incubação com o fungo *Pleurotus ostreatus*.

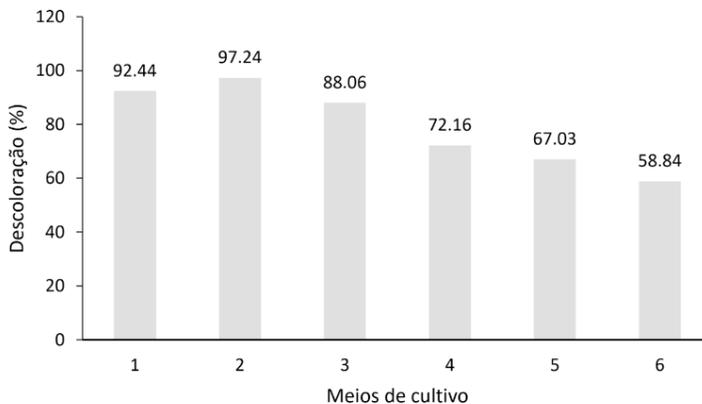


Figura 01. Descoloração do RBBR por *P. ostreatus* em meio líquido.

Fonte: o próprio autor.

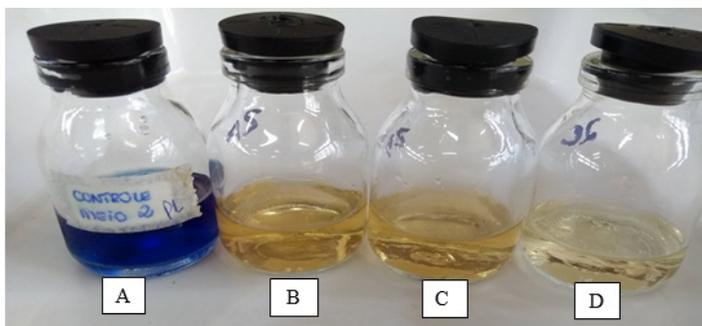


Figura 02. Descoloração do corante RBBR pelo fungo *P. ostreatus* durante cultivo líquido no meio 2. (A) controle - meio abiótico contendo o corante. (B); (C); (D) sobrenadante do cultivo fúngico em meio contendo o corante.

Fonte: o próprio autor.

O meio 3, que não continha glicose, resultou numa menor porcentagem de descoloração em relação aos meios 1 e 2. No sobrenadante deste meio, foi observado a presença de uma coloração ambar (Figura 03). Embora a tonalidade de azul característica do corante não estivesse mais presente, a pigmentação vermelha atrapalhou na determinação da porcentagem de descoloração do corante RBBR. Murugesan *et al.* (2007) explicam que fungos de podridão branca são ótimos biorremediadores pois apresentam alta taxa de produção de enzimas capazes de descolorir efluentes, porém, a presença de algumas enzimas como lacase, podem afetar a coloração do meio através da produção de pigmentos. Tauber, Guebitz

e Rehorek (2005) utilizaram o método de inativação enzimática combinado com ultrassom para evitar a formação de cores indesejáveis.



Figura 03. Descoloração do corante RBBR pelo fungo *P. ostreatus* durante cultivo líquido no meio 3. (A) controle – meio de cultivo abiótico contendo o corante. (B); (C); (D) sobrenadante do cultivo fúngico no meio 3.

Fonte: o próprio autor.

3.2.2 Remazol Azul BTE BB 133%

À partir dos dados na Figura 04, foi observado que a descoloração foi maior que 90 % em todos os meios, exceto no meio 6. E quase 100 % nos meios 1, 2 e 3 (Figura 05).

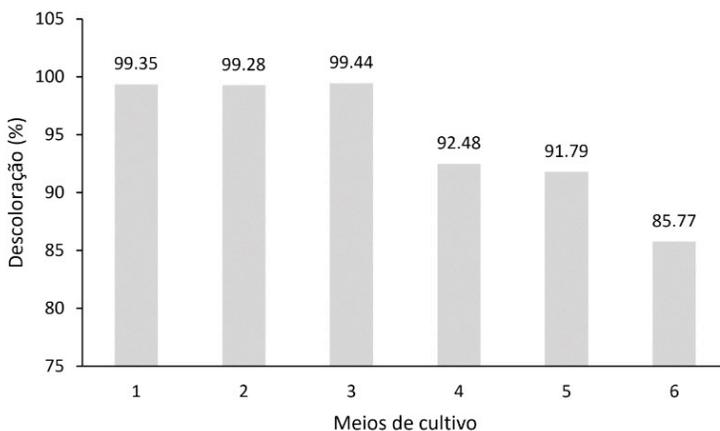


Figura 04. Descoloração do RA133 por *P. ostreatus*.

Fonte: o próprio autor.

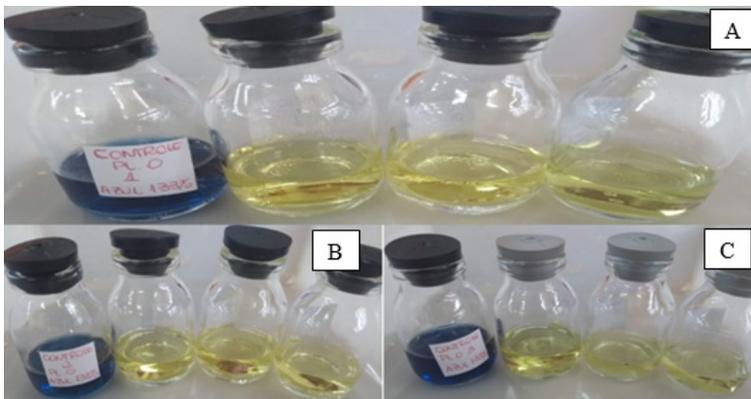


Figura 05. Descoloração dos meios 1 (A), 2 (B) e 3 (C) contendo o corante RA133 pelo fungo *P. ostreatus*.

Fonte: o próprio autor.

Os estudos de biorremediação com corantes do tipo trifenolmetano ainda apresentam divergências entre si. A dificuldade para acesso à estrutura dos corantes e também, o completo entendimento do mecanismo de ataque enzimático à essas estruturas químicas, podem estar relacionados com a dificuldade de encontrar um método efetivo para decoloração do mesmo. Lallawmsanga *et al.* (2019) testaram quatro diferentes corantes trifenolmetano com uma espécie de *Pleurotus*, obtendo níveis de decoloração de 16, 22 e 33% e somente um deles apresentou 68,61 %. Já os autores Przystaś, Zabłocka-Godlewska e Grabińska-Sota (2018) conseguiram 100% de decoloração, em 48 horas, do corante verde brilhante empregando a cepa de *P. ostreatus* imobilizada em suportes sólidos.

3.3 Descoloração dos corantes empregando o fungo *Laetiporus gilbertsonii* em meio líquido

3.3.1 Remazol Brilliant Blue RN

Na Figura 06 apresentam-se os níveis de decoloração obtidos após o período de cultivo, 87,70 % no meio cinco (Figura 07). Como mencionado na seção 3.3.1.1 a catalogação equivocada de espécies do gênero *Laetiporus*, pode ser o motivo da escassez de pesquisas que avaliam o potencial de biodescoloração deste fungo. Mtui e Masalu (2008) isolaram uma cepa de *Laetiporus sulphureus* de uma floresta da Tanzânia, obtendo 90% de decoloração para um corante de antraquinona. Wunch, Feibelman e Bennett (1997) avaliaram a decoloração de um corante poli-antraquinona, Poly R-478, por *L. sulphureus*, atingindo níveis de 68 %.

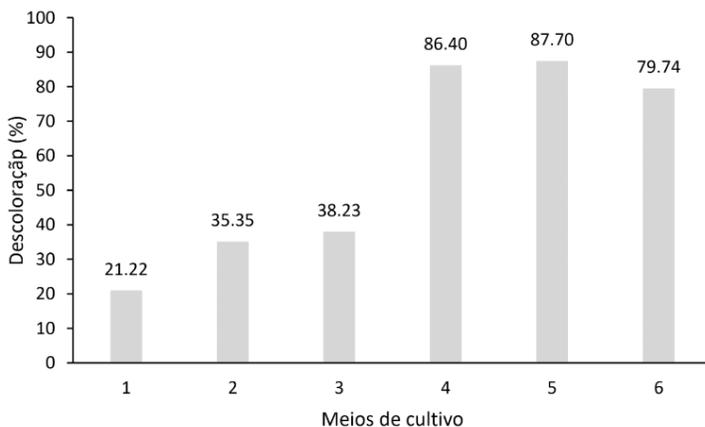


Figura 06. Descoloração do RBBR por *L. gilbertsonii*.

Fonte: o próprio autor.

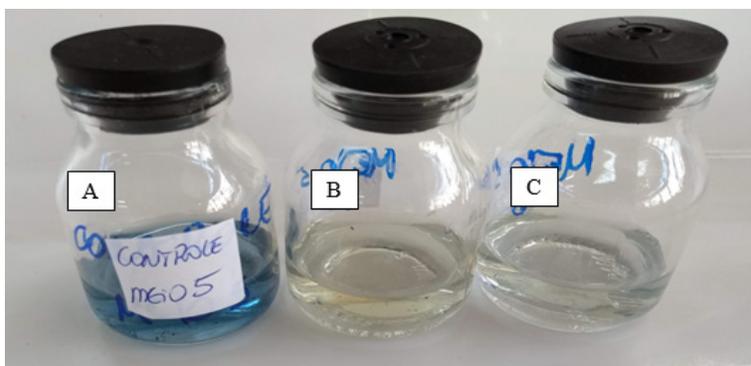


Figura 07. Descoloração do corante RBBR pelo fungo *L. gilbertsonii* durante cultivo líquido no meio 5. (A) controle – meio de cultivo abiótico contendo o corante. (B) e (C) sobrenadantes do cultivo fúngico no meio 5.

Fonte: o próprio autor.

3.3.2 Remazol Azul BTE BB 133%

Analisando a Figura 08 é possível observar que a descoloração do RA133 não foi eficiente na maioria dos seis meios, atingindo 83,12 % apenas no meio 1.

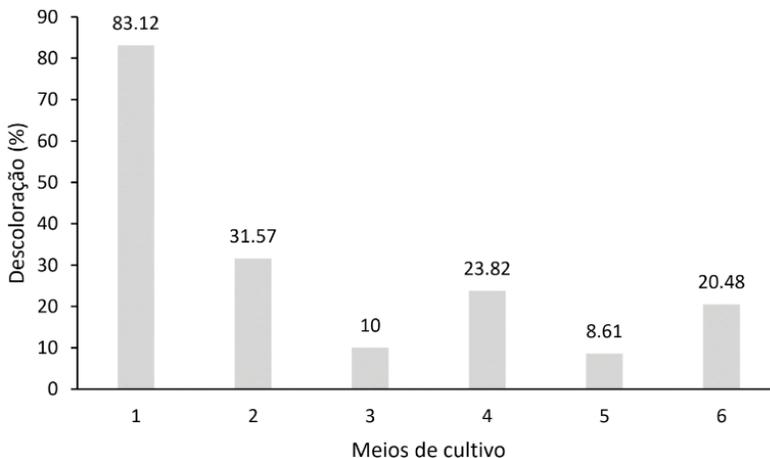


Figura 08. Descoloração do RA133 por *L. gilbertsonii*.

Fonte: o próprio autor.

3.4 Descoloração dos corantes empregando o isolado fúngico MB19-50 em meio líquido

3.4.1 Remazol Brilliant Blue RN

O isolado fúngico MB19-50 apresentou bons resultados nos meios 4, 5 e 6 (Figura 09), sendo que o pico de decoloração de 80 % ocorreu no meio 5.

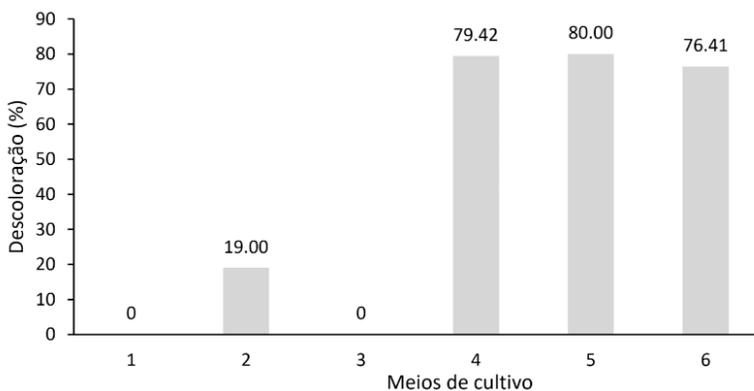


Figura 09. Descoloração do corante RBBR por MB19-50.

Fonte: o próprio autor.

3.4.2 Remazol Azul BTE BB 133%

Para o corante trifenilmetano Remazol Azul BTE BB 133 %, não foi constatado descoloração no sobrenadante dos cultivos fúngicos.

3.5 Avaliação da produção e atividade de oxidases durante os cultivos nos meios contendo corante

Todas as determinações foram expressas com a média \pm desvio padrão das triplicatas experimentais. A análise de variância (ANOVA) foi realizada utilizando o software The R Foundation for Statistical Computing. O teste de Tukey foi utilizado para avaliar as diferenças entre as médias ($p \leq 0,05$).

3.5.1 Lacase

Os resultados do ensaio enzimático (Tabelas 3 e 4) demonstraram que o *L. gilbertsonii* não produziu a enzima lacase na presença de nenhum dos corantes. O isolado fúngico MB19-50 apresentou atividade somente na incubação com o corante RA133, sendo 3,74 U/mL de atividade no meio seis. Já para o *P. ostreatus* foi encontrado atividade de lacase em todos os seis meios de cultivo, sendo as maiores atividades de 21,96 U/mL (meio 6) e 1,07 U/mL (meio 1), para os corantes RA133 e RBBR, respectivamente.

Os dados obtidos acordam com outros encontrados na literatura, onde fungos de podridão parda não são conhecidos como produtores de enzimas fenoloxidasas. Já os fungos de podridão branca, como o gênero *Pleurotus*, produzem maiores quantidades de lacase, sendo a principal enzima responsável pela biodegradação de lignina e corantes têxteis, destes fungos (ROBINSON; CHANDRAN; NIGAM, 2001). Levin, Malignani e Ramos (2010) testaram a produção enzimática de lacase em diferentes fungos de podridão branca, *Trametes trogiem*, *Trametes villosa* e *Coriolus vesicolor*, sendo o *T. trogiem* com atividade de 148,6 U/mL .

	RA133 (g)					
MEIOS	1	2	3	4	5	6
<i>P. ostreatus</i>	6,58 \pm 0,18 ^d	7,72 \pm 0,59 ^d	16,78 \pm 0,41 ^c	15,68 \pm 0,56 ^c	19,16 \pm 0,42 ^b	21,96 \pm 0,70 ^a
<i>L. gilbertsonii</i>	0	0	0	0	0	0
<i>MB19-50</i>	1,57 \pm 0,30 ^{cd}	1,03 \pm 0,06 ^{de}	0,81 \pm 0,07 ^e	2,33 \pm 0,11 ^b	1,66 \pm 0,26 ^c	3,74 \pm 0,26 ^a

Tabela 03. Atividade (U/mL) de Lac na presença do corante RA133. Em cada linha, os valores marcados com letras distintas indicam diferença significativa entre as médias, a nível de significância de $p \leq 0,05$.

Fonte: o próprio autor.

MEIOS	RBBR (g)					
	1	2	3	4	5	6
<i>P. ostreatus</i>	1,07 ± 0 ^a	0,13 ± 0,01 ^d	0,17 ± 0 ^c	0,12 ± 0 ^d	0,45 ± 0,01 ^b	0,13 ± 0 ^d
<i>L. gilbertsonii</i>	0	0	0	0	0	0
MB19-50	0	0	0	0	0	0

Tabela 04. Atividade (U/mL) de Lac na presença do corante RBBR. Em cada linha, os valores marcados com letras distintas indicam diferença significativa entre as médias, a nível de significância de $p \leq 0,05$.

Fonte: o próprio autor.

3.5.2 Manganês Peroxidase

Todos os microrganismos apresentaram atividade de manganês peroxidase na presença de ambos os corantes, RBBR e RA133. (Tabelas 05 e 06). O *P. ostreatus* apresentou maior atividade, 14,38 U/mL (meio 5) e 42,59 U/mL (meio 4), na presença do RA144 e RBBR, respectivamente. Já o *L. gilbertsonii* apresentou níveis de 27,94 U/mL (meio 6) para RA133 e 15,53 U/mL (meio 4) para RBBR. O isolado MB19-50 na presença do corante RA133 teve maior atividade em torno de 12,77 U/mL (meio 1) e para o RBBR 36,77 U/mL (meio 1).

MEIOS	RA133 (g)					
	1	2	3	4	5	6
<i>P. ostreatus</i>	1,84 ± 0,27 ^f	5,87 ± 0,15 ^e	6,86 ± 0,25 ^d	9,71 ± 0,08 ^c	14,38 ± 0,06 ^a	13,64 ± 0,20 ^b
<i>L. gilbertsonii</i>	5,54 ± 0,35 ^d	2,12 ± 0,13 ^f	4,10 ± 0,13 ^e	8,18 ± 0,16 ^c	9,17 ± 0,03 ^b	27,94 ± 0,16 ^a
MB19-50	12,77 ± 0,31 ^a	0 ^e	3,97 ± 0,11 ^d	7,17 ± 0,17 ^b	5,72 ± 0,25 ^c	6,01 ± 0,17 ^c

Tabela 05. Atividade (U/mL) de MnP na presença do corante RA133. Em cada linha, os valores marcados com letras distintas indicam diferença significativa entre as médias, a nível de significância de $p \leq 0,05$.

Fonte: o próprio autor.

MEIOS	RBBR (g)					
	1	2	3	4	5	6
<i>P. ostreatus</i>	10,85 ± 0,21 ^d	13,49 ± 0,46 ^c	15,82 ± 0,45 ^b	42,59 ± ,033 ^a	6,68 ± 0,53 ^e	14,73 ± 0,44 ^b
<i>L. gilbertsonii</i>	12,42 ± 0,09 ^c	8,15 ± 0,20 ^d	12,76 ± 0,40 ^c	15,53 ± 0,10 ^a	13,67 ± 0,31 ^b	3,03 ± 0,09 ^{bc}
MB19-50	36,77 ± 0,34 ^a	9,83 ± 0,31 ^c	6,97 ± 0,14 ^d	13,55 ± 0,26 ^b	3,38 ± 0,27 ^e	3,65 ± 0,11 ^e

Tabela 06. Atividade (U/mL) de MnP na presença do corante RBBR. Em cada linha, os valores marcados com letras distintas indicam diferença significativa entre as médias, a nível de significância de $p \leq 0,05$.

Fonte: o próprio autor.

3.5.3 Lignina Peroxidase

Nenhum dos fungos avaliados apresentou atividade de Lignina Peroxidase nos diferentes meios de cultivo.

4 | CONCLUSÃO

A descoloração dos corantes Remazol Brilliant Blue RN (RBBR) e Remazol Azul BTE BB 133% (RA133) pelo fungo *Pleurotus ostreatus* foi promissora, alcançando máximas de descoloração de 97,24% (meio 2) e 99,44% (meio 3), respectivamente. Já para o fungo *Laetiporus gilbertsonii* MY-01 a descoloração do RBBR atingiu níveis de 87,70% (meio 5) e para o RA133 83,12% (meio 1). O isolado fúngico MB19-50 apresentou descoloração de 80% (meio 5) para o corante RBBR e não descoloriu o RA133 em nenhum dos seis meios de cultivo. A utilização de resíduos lignocelulósicos como fonte de carbono nos meios líquidos, favoreceu o crescimento dos três fungos. A enzima lacase na presença do corante RA133 foi identificada em todos os sobrenadantes dos meios de cultivo do *P. ostreatus*, com melhor atividade de 21,96 U/mL; o isolado MB19-50 apresentou atividade de 3,74 U/mL e o *L. gilbertsonii* não apresentou atividade enzimática em nenhum dos meios. Na presença do RBBR somente o fungo *P. ostreatus* apresentou atividade de lacase, sendo a melhor atividade de 1,07 U/mL. Os três fungos apresentaram atividade de manganês peroxidase na presença dos corantes RBBR e RA133. Para o RA133 o *P. ostreatus* apresentou 14,38 U/mL de atividade, para o *L. gilbertsonii* obteve-se máxima de atividade de 27,97 U/mL e o MB19-50 apresentou atividade de 12,77 U/mL. Já na presença do corante RBBR o fungo *P. ostreatus* apresentou 42,59 U/mL de atividade, o *L. gilbertsonii* atingiu máxima de atividade enzimática de 15,53 U/mL e o MB19-50 apresentou atividade de 36,77 U/mL.

5 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos de biorremediação empregando microrganismos, em especial os fungos, são alternativas biotecnológicas sustentáveis para tratamento de efluentes. Através do presente trabalho foi possível constatar que os fungos de podridão branca e parda, possuem esse potencial biotecnológico devido a produção de enzimas que atuam na biodegradação de xenobióticos.

A utilização de resíduos lignocelulósicos provenientes da agroindústria ou agroflorestais, como substrato de fermentação, é alternativa que se encaixa em muitos aspectos hoje abordados, como, sustentabilidade, ideologias de produção, eficácia do ecossistema, química verde e engenharia ecológica. A possibilidade de reutilização desses materiais além de sustentável se encaixa nos aspectos

econômicos, visto que novas empregabilidades dos resíduos agregam valor aos mesmos e possibilitam uma nova economia.

Pesquisas deste âmbito mostram que ainda existe muito a ser estudado. Otimização e aumento da atividade enzimática, testes com enzimas em diferentes suportes para imobilização, tratamentos alternativos e sustentáveis que não gerem subprodutos, alternativas para logística de biorremediação em escala industrial, são alguns exemplos de áreas que ainda podem ser exploradas.

REFERÊNCIAS

BRASIL – FUNASA. **Manual de Saneamento**. 3 ed. rev. – Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2004. 408 p.

LALLAWMSANGA, L. *et al.* **Elevated levels of laccase synthesis by *Pleurotus pulmonarius* BPSM10 and its potential as a dye decolorizing agent.** *Saudi Journal of Biological Sciences*, v. 26, n. 3 p. 464-468, 2019.

LALNUNHLIMI, Sylvine.; Krishnaswamy, Veenagayathri. **Decolorization of azo dyes (Direct Blue 151 and Direct Red 31) by moderately alkaliphilic bacterial consortium.** *Brazilian Journal of Microbiol.*, v. 74, n. 1, p. 39-46, 2016.

LEVIN, Laura; MELIGNANI, Eliana; RAMOS, M. Araceli. **Effect of nitrogen sources and vitamins on ligninolytic enzyme production by some white-rot fungi. Dye decolorization by selected culture filtrates.** *Bioresource Technology*, v. 101, n. 12, p. 4554-4563, 2010.

MTUI, Godliving; MASALU, Rose. **Extracellular enzymes from brown-rot fungus *Laetiporus sulphureus* isolated from mangrove forests of coastal Tanzania.** *Scientific Research and Essay*, v. 3, n. 4, p. 154-161, apr. 2008.

MURUGESAN, Kumarasamy; NAM, In-Hyun; KIM, Young-Mo; CHANG, Yoon-Seok. **Decolorization of reactive dyes by a thermostable laccase produced by *Ganoderma lucidum* in solid state culture.** *Enzyme and Microbial Technology*, v. 40, n. 7, p. 1662-1672, jun. 2007.

PANDEY, K. Raj; TEWARI, Salil; TEWARI, Lakshmi. **Lignolytic mushroom *Lenzites elegans* WDP2: Laccase production, characterization, and bioremediation of synthetic dyes.** *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 158, p. 50-58, 2018.

PASZCZYNSKI, A.; HUYNH V. B.; CRAWFORD, R. **Enzymatic activities of an extracellular, manganese-dependent peroxidase from *Phanerochaete chrysosporium*.** *FEMS Microbiology Letters*, v. 29 p 37-41, 1985.

PRZYSTAŚ, Wioletta.; ZABŁOCKA-GODLEWSKA, Ewa.; GRABIŃSKA-SOTA, Elżbieta. **Efficiency of decolorization of different dyes using fungal biomass immobilized on different solid supports.** *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 49, n. 2, p. 285-295, 2018.

ROBINSON, T; CHANDRAN, B; NIGAM, P. **Studies on the production of enzymes by white-rot fungi for the decolourisation of textile dyes.** *Enzyme and Microbial Technology*, v. 28, n. 8, p. 575-579, 2001.

TAUBER, M. Michael; GUEBITZ, M. Georg; REHOREK, Astrid. **Degradation of azo dyes by laccase and ultrasound treatment.** *Applied and Environmental Microbiology*, v. 71, n. 5, p. 2600–2607, 2005.

TIEN, Ming; KIRK, T. Kent. **Lignin-degrading enzyme from *Phanerochaete chrysosporium*: Purification, characterization, and catalytic properties of a unique H₂O₂-requiring oxygenase.** *Proc. Natl. Acad. Sci. UAS*, v. 81, n. 8, p. 2280-2284, 1984.

XU, Ling. *et al.* **Laccase production by *Trametes versicolor* in solid-state fermentation using tea residues as substrate and its application in dye decolorization.** *Journal of Environmental Management*, v. 270, 2020.

WARIISHI, Hiroyuki; VALLIS, Khadar; GOLD, H. Michael. **Manganese(II) Oxidation by Manganese Peroxidase from the Basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*.** *The Journal of Biological Chemistry*, v. 267, n. 33, p. 23689-23695, jul. 1992.

WUNCH, G. K; FEIBELMAN, J. BENNETT, W. **Screening for fungi capable of removing benzo[a]pyrene in culture.** *Appl Microbiol Biotechnology*, v. 47, p. 620-624, 1997.

ZHUO, Rui; ZHANG, Jinwen; YU, Hongbo; MA, Fuying; ZHANG, Xiaoyu. **The roles of *Pleurotus ostreatus* HAUCC 162 laccase isoenzymes in decolorization of synthetic dyes and the transformation pathways.** *Chemosphere*, v. 23, n. 234, p. 733-745, 2019.

ESTUDO DAS CONDIÇÕES DE PREPARO DO BAGAÇO DE MALTE DE CERVEJARIA NA OBTENÇÃO DE GLICOSE APÓS SUA HIDRÓLISE ÁCIDA

Data de aceite: 01/09/2020

Data de submissão: 30/07/2020

Fernanda Ferreira Freitas

Universidade Federal de Goiás
Goiânia, Goiás
<http://lattes.cnpq.br/0883086742146577>

Margarete Martins Pereira Ferreira

Universidade Federal de Goiás,
Goiânia, Goiás
<http://lattes.cnpq.br/4314881350457557>

Araceli Aparecida Seolatto

Universidade Federal de Goiás
Goiânia, Goiás
<http://lattes.cnpq.br/1495882445078650>

Danielle Pires Nogueira

Universidade Federal de Goiás
Goiânia, Goiás
<http://lattes.cnpq.br/3300018822284940>

Rodrigo Silva Fontoura

Universidade Federal de Goiás
Goiânia, Goiás
<http://lattes.cnpq.br/1516430867227983>

RESUMO: O processo de produção de cerveja gera uma grande quantidade de bagaço de malte de cevada durante seu processo produtivo. Este bagaço tem recebido atenção devido ao seu elevado teor em hemicelulose e celulose, e foi considerado um resíduo promissor para a geração de etanol 2G. O uso deste resíduo sólido é uma questão a ser estudada. A hidrólise ácida

é uma técnica que pode ser usada em materiais lignocelulósicos para a obtenção de açúcares. Sendo assim, nesse trabalho, foram realizados testes de hidrólise ácida do bagaço de malte de cervejaria partindo de condições estabelecidas a partir de um planejamento estatístico do tipo composto central rotacional a três níveis, com três réplicas no ponto central, 8 ensaios para a investigação fatorial e seis experimentos nos pontos axiais (α), totalizando 17 experimentos. Foi utilizado como variáveis independentes o ácido sulfúrico diluído nas concentrações de 150, 200 e 250 mg de ácido por grama de sólido seco; a relação entre a matéria seca e solução de 1:8, 1:10 e 1:12 (g/g) e o tempo de reação de 12, 17 e 22 minutos em autoclave a 121 °C. Foram utilizados bagaços em condição in natura e seco a 60 °C, a fim de encontrar uma possível influência da secagem na obtenção de glicose, considerada como variável dependente, a partir do bagaço hidrolisado. Os experimentos mostraram que as melhores condições para a quantificação de glicose pela hidrólise ácida do bagaço foram obtidas para as soluções ácidas de concentração moderada (200 mg/g sólido seco), baixa razão de solução/bagaço e tempos de hidrólise dos níveis intermediários a altos, a partir do bagaço seco a 60°C, em que a maior concentração de glicose foi de 4,318 g/ L. A quantificação da glicose é um bom indicador do possível uso desta biomassa na produção de etano 2G.

PALAVRAS - CHAVE: Bagaço de malte, hidrólise ácida, delineamento composto central, secagem de bagaço.

A STUDY ON THE CONDITIONS FOR PREPARING BEER MALT BAGASSE TO OBTAIN GLUCOSE AFTER ACID HYDROLYSIS

ABSTRACT: The beer production process generates large amounts of barley malt bagasse during its production process. This bagasse has had attention due to its high content of hemicellulose and cellulose, and was considered a promising residue to generate 2G ethanol. The use of these solid wastes must be studied. Acid hydrolysis is a technique that can be used to obtain sugars from lignocellulosic materials. Therefore, in this work, acid hydrolysis tests were carried out on the brewer's malt bagasse. The studied conditions were established using a three-level rotational central composite design type statistical plan. The assays consisted of three replicas at the central point, eight tests for the factorial investigation and six experiments on the axial points (α), totaling 17 experiments. The independent variables studied were diluted sulfuric acid concentration (150, 200 and 250 mg of acid per gram of dry solid), dry matter solution ration (1: 8, 1:10 and 1:12 (g/g)), and reaction time (12, 17 and 22 minutes). The assays were done in an autoclave at 121°C. Bagasse was used fresh and dried at 60°C, in order to find a possible influence of drying on obtaining glucose, considered as our dependent variable, from the hydrolyzed bagasse. The experiments showed that the best conditions for glucose generation by the bagasse acid hydrolysis were acquired with the intermediate concentration acid solutions (200 mg/g dry solid), low solution/bagasse ratio and hydrolysis times from intermediate to high levels. The highest concentration of glucose, 4.318 g/L, was from bagasse dried at 60°C. The quantification of glucose is a good indicator of the possibility of using this biomass in the production of 2G ethanol.

KEYWORDS: Malt bagasse, acid hydrolysis, central composite design, bagasse drying.

1 | INTRODUÇÃO

A indústria cervejeira gera uma grande quantidade de biomassa, o resíduo de grão de cervejaria (malte), representa cerca de 85% dos subprodutos gerados. Estima-se uma produção mundial desta biomassa de aproximadamente $3,08 \times 10^7$ toneladas por ano (MUSSATO, 2014). Atualmente, este resíduo é destinado principalmente para a nutrição animal de gado leiteiro. Porém, o crescimento do setor cervejeiro tem aumentando a geração deste subproduto e em alguns países, a criação de gado não é comum, tornando este tipo de resíduo problemático (WIERZBA *et al.*, 2019). Para o Brasil manter-se entre os líderes cervejeiros de fabricação, implica em um aumento contínuo na produção da cerveja a nível nacional, seja na ampliação das capacidades produtivas de cada unidade fabril, ou na abertura de novas plantas. Esse aumento traz consigo o acréscimo na geração dos resíduos industriais, que se não forem tratados de forma adequada, representam um risco para o meio ambiente e conseqüentemente, para a população. Sendo assim, o setor cervejeiro no Brasil deveria dar um valor tecnológico a essa biomassa, por ser uma

alternativa interessante, uma vez que há uma produção expressiva desse resíduo, chegando a 20 kg para cada 100 L de cerveja fabricada (SOFIYANTI *et al.*, 2015).

Esse problema pode ser minimizado com a implementação de biorrefinarias lignocelulósicas, que fará a conversão dessa biomassa em biomateriais, como por exemplo, o bioetanol (ZHANG, 2008, BES *et al.*, 2019). A produção em larga escala do bioetanol a partir de resíduos agrícolas elimina a concorrência existente entre alimento e combustível, sendo esses resíduos lignocelulósicos uma alternativa de baixo custo e a disposição para esse uso durante todo ano (SARKAR *et al.*, 2012).

Uma alternativa na produção de etanol por vias não convencionais é o uso do bagaço de malte de cervejaria (BMC). Essa biomassa composta de fibras e proteínas é fonte rica de açúcares para a produção de etanol de segunda geração (2G) (RAVINDRAN *et al.* 2018). O problema de muitos resíduos devem-se à grande umidade em que estes são disponibilizados pelas indústrias, o que leva a uma rápida degradação e a uma vida útil, em condições ambientes, de aproximadamente 7 (sete) dias. Para aumentar o tempo de vida deste bagaço, conservando suas propriedades, uma opção é realizar a desidratação desta matéria-prima (GÁRCIA-PÉREZ *et al.*, 2010). A secagem por convecção com ar aquecido é comumente usada para alimentos perecíveis, assim como para o bagaços (KATSUBE *et al.*, 2009; TORRES *et al.*, 2010).

Para converter o bagaço em etanol, secando ou não, o processo se inicia com a etapa de pré tratamento, seguindo para a hidrólise, fermentação e finaliza com o processo de separação dos produtos gerados, que é feito normalmente por meio da operação de destilação (SILVA *et al.*, 2015). A hidrólise é um dos processos de maior impacto ao material, e pode ocorrer por meios ácidos ou enzimáticos. O primeiro pode acontecer com ácidos concentrados ou diluídos, e a depender das condições, a hidrólise ácida dispensa a etapa de pré tratamento (DUSSÁN *et al.*, 2014; CANIZO *et al.*, 2014).

A hidrólise ácida é uma técnica que pode ser usada em materiais lignocelulósicos para a obtenção de açúcares. O que ainda não se sabe é se a secagem desse bagaço pode influenciar na qualidade do hidrolisado para a quantificação de açúcares fermentescíveis para posterior fermentação e obtenção de etanol 2G.

Com base no exposto acima, o objetivo desse trabalho é estudar a influência do preparo da biomassa em diferentes condições (in natura e seco a 60°) que serão usados na hidrólise com ácido sulfúrico diluído a fim de verificar em qual das condições o bagaço de malte de cervejaria apresenta melhores resultados, ou seja, maiores concentrações de glicose para posterior fermentação e obtenção de etanol 2G.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Preparo do Bagaço de Malte de Cevada

O bagaço de malte de cevada (BMC) foi fornecido pela Indústria e Comércio de Bebidas Imperial SA, localizada na cidade de Trindade, Goiás. O bagaço foi obtido durante a etapa de preparo do mosto cervejeiro, composto basicamente de malte claro de cevada, água e cereais não maltados. Este material é disponibilizado pela empresa com alto teor de umidade (aproximadamente 80% em base seca). Para evitar a degradação deste, parte do material in natura foi homogeneizado e separado em porções de aproximadamente 500 gramas e armazenado em freezer a temperatura de -18°C . A outra parte foi seca na temperatura de 60°C em estufa com circulação forçada de ar modelo 400-5ND da marca Nova Ética, até umidade de aproximadamente 5% em base seca. As amostras secas foram armazenadas em sacos plásticos e utilizadas nos experimentos sem sofrerem modificação na sua granulometria.

Em cada hidrólise, foram utilizados os bagaços nas condições in natura (descongelado) e seco a 60°C , totalizando duas condições do material. A cada experimento, foram realizadas a determinação da umidade através do equipamento i-Thermo da marca BEL, para que o volume de água das soluções ácidas fossem corrigidos.

2.2 Preparo da Hidrólise

As duas condições do BMC já citadas no item anterior foram submetidos a um processo de hidrólise com ácido sulfúrico, partindo de condições estabelecidas a partir de um planejamento estatístico do tipo composto central rotacional a três níveis, com três réplicas no ponto central, acrescidos de 8 ensaios para a investigação fatorial e mais seis experimentos nos pontos axiais (α), totalizando assim 17 experimentos. O bagaço de malte de cevada foi submetido inicialmente a um processo de hidrólise com ácido sulfúrico diluído, baseado em condições já determinadas e otimizadas por Mussatto e Roberto (2005). Após o preparo das soluções e do bagaço, a mistura era adicionada em Erlenmeyers com capacidade de 125 mL. Em seguida, o conjunto era levado à autoclave, onde a hidrólise ocorria baseado em tempos estabelecidos pelo planejamento experimental

As concentrações das soluções de ácido sulfúrico utilizadas foram de 150 mg, 200mg e 250mg de H_2SO_4 (95% p/p) por grama de matéria seca (MS) variando-se a relação entre massa de matéria seca por massa de solução ácida de 1:8, 1:10 e 1:12 (g/g). A hidrólise foi conduzida à temperatura de 121°C por tempo de 12, 17 e 22 minutos em autoclave modelo AB12 da marca Phoenix. As variáveis independentes e os valores dos seus níveis reais e codificados estão descritos na

Tabela 1. Os ensaios foram conduzidos utilizando 4g de bagaço seco, pesando a quantidade correspondente ao experimento do ácido (H_2SO_4 , 98% p/p por grama de matéria seca), obedecendo a razão de massa de matéria seca e massa de solução ácida (g/g).

Variáveis independentes	Unidades	Níveis				
		-1	0	+1	α	- α
H_2SO_4	mg/g	150	200	250	284	116
Tempo	min	12	17	22	25,4	8,6
MS:solução	g/g	1:8	1:10	1:12	1:13,7	1:6,6

Tabela 1 - Variáveis independentes e seus níveis utilizados no planejamento experimental

Ao final de cada experimento de hidrólise, o hidrolisado hemicelulósico do bagaço foi separado do resíduo sólido contendo celulose e lignina, por meio de filtração a vácuo. Para a quantificação da glicose obtida na hidrólise, foi utilizado a metodologia God Pod, glicose monoreagente, da marca Bioclin, utilizando um espectrofotômetro a 505 nm para realizar a leitura.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

As respostas das quantidades de glicose para a hidrólise ácida do BMC nas condições estabelecidas pelo planejamento do tipo composto central para o bagaço in natura e seco a 60°C, estão apresentadas na Tabela 2.

Ensaio	Conc.Ác. (mg/g)	Mliq/Msol (g/g)	Tempo (min)	In Nat (g/L)	Seco 60°C (g/L)
1	150,00 (-1)	8 (-1)	12 (-1)	3,674	3,585
2	150,00 (-1)	8 (-1)	22 (1)	4,289	4,232
3	150,00 (-1)	12 (1)	12 (-1)	3,244	2,837
4	150,00 (-1)	12 (1)	22 (1)	4,112	3,977
5	250,00 (1)	8 (-1)	12 (-1)	3,851	3,238
6	250,00 (1)	8 (-1)	22 (1)	4,099	3,833
7	250,00 (1)	12 (1)	12 (-1)	3,808	3,144
8	250,00 (1)	12 (1)	22 (1)	4,130	4,032
9	116 (-1,7)	10 (0)	17 (0)	3,133	2,916
10	284 (1,7)	10 (0)	17 (0)	3,618	3,498
11	200,00 (0)	6,6 (-1,7)	17 (0)	4,393	4,318

12	200,00 (0)	13,3 (1,7)	17 (0)	4,154	4,020
13	200,00 (0)	10 (0)	8,6 (-1,7)	3,725	2,717
14	200,00 (0)	10 (0)	25,4 (1,7)	4,425	3,931
15 (C)	200,00 (0)	10 (0)	17 (0)	3,871	3,796
16 (C)	200,00 (0)	10 (0)	17 (0)	3,897	3,854
17 (C)	200,00 (0)	10 (0)	17 (0)	3,845	3,741

Tabela 2 - Matriz do DCCR apresentando as variáveis independentes codificadas e não codificadas e os resultados de concentração de hidrólise

Os resultados da hidrólise ácida do BMC nas duas condições do bagaço (in natura, seco a 60 °C), foram analisados estatisticamente utilizando o planejamento experimental por meio do programa estatístico STATISTIC 7.1. Nestes planejamentos experimentais, considerou-se um nível de significância de 90%, ou seja, foram considerados significativos os parâmetros $p < 0,1$.

Analisando a Tabela 2, podemos observar uma boa reprodutibilidade entre os pontos centrais, evidenciando a qualidade da repetibilidade do processo. Em relação à condição in natura, as maiores concentrações de glicose após a hidrólise ácida, foram obtidas nos ensaios 11 e 14 em que foram obtidas concentrações de glicose de 4,393 e 4,425 g/L, respectivamente. Nos dois casos, a concentração do ácido foi mantida em 200 mg de ácido para cada grama de bagaço seco. Comparando o experimento 14 com o ensaio 13, verifica-se que a diminuição do tempo de hidrólise de 25,4 para 8,6 minutos, mantendo as outras variáveis constantes, a resposta foi diminuída em aproximadamente 16%. Essa variação dos valores pode nos sugerir que o tempo seja uma variável relevante no processo. Ainda na condição in natura, pode-se observar que as piores respostas foram obtidas nos ensaios 9 e 3, gerando concentrações de glicose de apenas 3,133 e 3,244 g/L respectivamente. Isso representa uma diminuição de aproximadamente 41% em relação ao melhor resultado para esta condição do bagaço. Nestes ensaios, podemos observar que foram utilizados os menores níveis de concentração ácida (116 e 150 mg/g). Nestes dois experimentos, observa-se que a variável razão de massa da solução pela massa do sólido seco oscilou entre o nível intermediário (10,0 g/g) e superior (12,0 g/g), o que pode sugerir que esta variável em altos valores não contribui para a melhoria da resposta. Podemos sugerir também que o aumento da concentração do ácido está sendo benéfico para o resultado do experimento. Ao traçar um comparativo entre a melhor condição (ensaio 14) e a pior (ensaio 9) para o bagaço in natura, vimos que o aumento da concentração ácida (de 116 mg/g para 200 mg/g) e do tempo de hidrólise (de 17 min para 25,4 min) mantendo a razão mássica em 10 g/g, melhorou o desempenho da hidrólise. Com isso pode-se observar uma forte influência da

concentração ácida e do tempo no desempenho da hidrólise, sendo que o aumento da concentração ácida e do tempo resulta em melhores resultados da hidrólise.

A partir dos valores apresentados na Tabela 2, realizou-se uma regressão múltipla obtendo uma estimativa dos efeitos de cada variável avaliada na hidrólise ácida do bagaço e suas interações. Após análise da regressão múltipla, obteve-se o modelo na sua forma reduzida contendo apenas os parâmetros significativos, representado pela Equação 1.

$$[\text{Glicose}] = 3,871604 + 0,101390C - 0,177266C^2 - 0,077266R + 0,140225R^2 + 0,236530t + 0,070045t^2 + 0,074375C \cdot R - 0,114125C \cdot t \quad [1]$$

Este modelo apresentou um coeficiente de determinação $R^2=92\%$. O modelo matemático encontrado após o planejamento fatorial, foi validado empregando valores de temperatura, massa e vazão dentro da faixa estudada no planejamento. A partir da Equação 1, foram geradas as superfícies de resposta e as curvas de níveis que correspondem a cada par de variáveis independentes em função da variável resposta concentração de glicose, dada em gramas de glicose por litro de solução.

Ao observar a Figura 1, verifica-se que a região de maior liberação de glicose está compreendida nos maiores tempos de reação e em uma faixa entre os níveis -1 e +1 da concentração ácida (nível intermediário). Isso condiz com os resultados obtidos nos experimentos 2 e 14, em que apresentaram os valores mais expressivos de açúcar. O contrário, pode-se dizer do experimento 3, com o menor nível de tempo e concentração, apresentou uma das menores quantidades de glicose ao final da hidrólise. Ao observar a relação entre tempo e as relações de massa, os níveis superiores de tempo, provocaram o aumento na obtenção de glicose, enquanto a relação de massa apresentou melhores resultados em seus níveis extremos, mínimo e máximo, o que confirma que a interação entre estes dois fatores não é significativo para o modelo, no nível de confiança de 90%. Isso sugere que o efeito de cada variável não afetou em nenhum nível a outra variável empregada. Entre os níveis mínimos e máximos da relação de massa, associada a níveis intermediários de concentração ácida levou às maiores concentrações de glicose, onde essa interação não foi significativa para o trabalho desenvolvido por Mussato e Roberto (2006), no nível de confiança de 95% ($p > 0,05$).

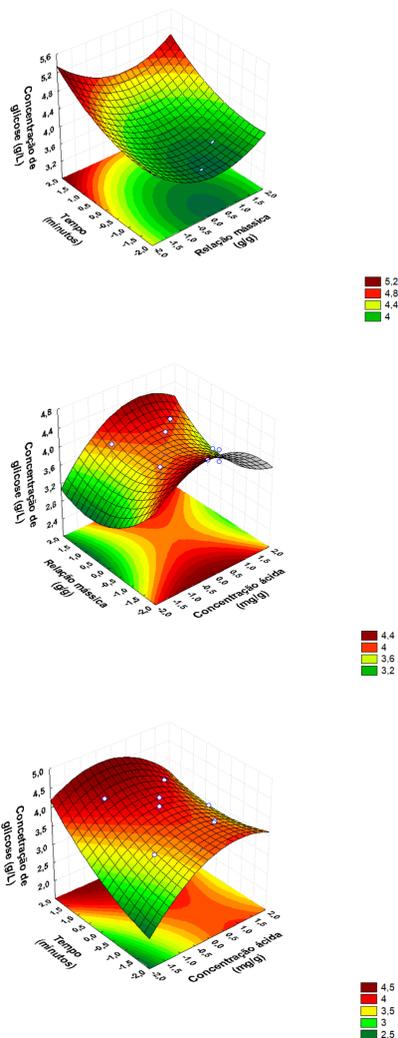


Figura 1 - Superfícies de respostas para o planejamento estatístico na quantificação de glicose do bagaço in natura.

Outros pesquisadores encontraram que a variável concentração de ácido foi a mais significativa, e que tempos elevados podem levar a transformação dos açúcares gerados em outros compostos, reduzindo o rendimento, porém em muitos casos esses tempos são consideravelmente maiores (40, 60, 90 até 120 min) (MELO et al., 2008; EL-TAYEB et al., 2012) do que os estudados neste estudo

Em relação à condição do bagaço seco a 60°C, a maior concentração de glicose após a hidrólise ácida, foi obtida no ensaio 11 em que foi observado a concentração de glicose de 4,318 g/L. Nesse ensaio, a concentração do ácido e o tempo apresentam-se nos níveis intermediários, e a razão mássica no menor nível.

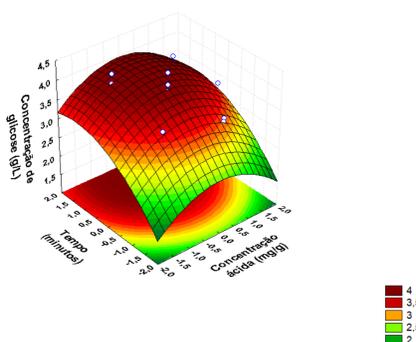
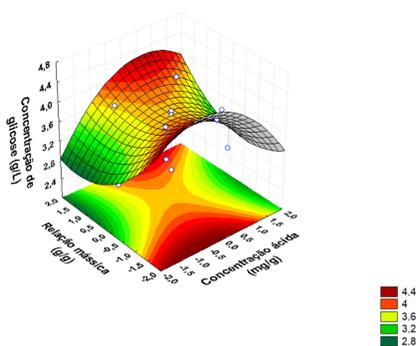
Comparando o ensaio 11 com o ensaio 17, verifica-se que o aumento da razão de massa da solução pela massa do sólido seco de 6,6 para 10 g/g, mantendo as outras variáveis constantes, piorou o desempenho da hidrólise em mais de 13%. As piores respostas para a condição do BMC seco a 60°C foram obtidas nos ensaios 3 e 13, gerando concentrações de apenas 2,717 e 2,837 g/L, respectivamente. Isso representa uma redução de aproximadamente 37% em relação ao melhor resultado para esta condição do bagaço. Comparando o experimento 13 com o ensaio 14, verifica-se que o aumento do tempo de hidrólise de 8,6 min para 25,4 min, mantendo as outras variáveis constantes, a resposta foi melhorada em aproximadamente 31%, o que pode sugerir que a variável tempo, também na condição seco a 60°C seja uma variável significativa, comprovando o que foi observado na condição in natura.

Para esta condição do bagaço, foi feita a mesma análise estatística realizada no bagaço in natura, obtendo o modelo reduzido representado pela Equação 2 ($R^2=92,0\%$.)

$$[\text{Glicose}] = 3,793323 - 0,195930C^2 - 0,102452R + 0,144188R^2 + 0,388940t - 0,154564t^2 + 0,138500C \cdot R \quad (2)$$

Aqui também foi realizada a validação do modelo matemático encontrado após o planejamento fatorial, empregando valores de temperatura, massa e vazão dentro da faixa estudada no planejamento. Pode-se notar que o termo linear do tempo foi o mais significativo, sendo seu efeito quase 55% superior ao da concentração de ácido quadrática, segundo termo com maior significância para o modelo. Isso mostra que o aumento do tempo favorece a formação de glicose nas condições estudadas. Ao analisar as Figuras, observa-se que entre os tempos de 17 – 22 minutos, e concentrações ácidas entre 200 – 250 mg/g, ambas em seus níveis 0 a +1, foram obtidas maiores quantidades de glicose. Isso pode ser observado nos experimentos 8 e 11, que trabalhando com os níveis intermediários e máximos destes fatores, tiveram os maiores valores de glicose após a reação. Já nos experimentos 3 e 13, em que foram adotados níveis próximos ao mínimo, foram observados os menores resultados. Os melhores resultados podem ser obtidos em uma faixa ampla de concentração, para ambas as variáveis (entre os níveis -1 e +1). Tempos intermediários com níveis mínimo e máximo da relação de massa (8 e 12 g/g), sugerem um aumento na obtenção de glicose, fato este comprovado pela não significância desta interação para este modelo o que sugere que o efeito de cada variável não afetou em nenhum nível a outra variável empregada. Isso pode ser observado nos experimentos 2, 8 e 11, em que foram observados os maiores valores de glicose, após a hidrólise. Já nos ensaios 3 e 13, foram obtidos os menores níveis de açúcar, confirmando o que foi encontrado nas análises estatística

para esta condição do bagaço. Observa-se que nos níveis mínimos e intermediários da concentração ácida associados a níveis baixos da relação de massa, levaram às maiores concentrações de glicose. Isso pode ser observado nos experimentos 2 e 11, que trabalhando com as menores relações mássicas (níveis baixos) e concentrações moderadas a baixas (níveis intermediários e menores), conseguiram os maiores valores de glicose para esta condição do bagaço. Verifica-se então, que o fator tempo foi o de maior relevância em todas as condições estudadas. É possível perceber também, que baixos tempos de hidrólise com ácido diluído levam a uma quebra parcial dos compostos lignocelulósicos, ou seja, maior quantidade de glicose ocorre a tempos maiores do que as estudadas nestes ensaios. Porém, ao comparar com a literatura, vê-se que tempos muito elevados favorecem a degradação dos açúcares formados, reduzindo o rendimento do processo (MELO et al., 2008).



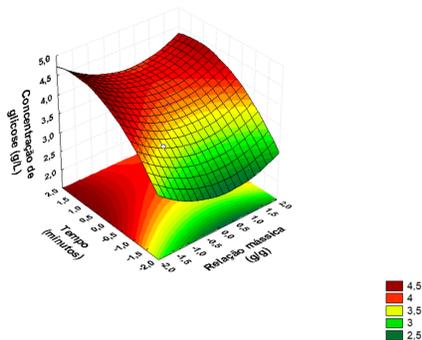


Figura 2 - Superfícies de respostas para o planejamento estatístico na quantificação de glicose do bagaço seco a 60°C.

Dussán et al. (2014) encontraram uma baixíssima influência da interação entre a concentração ácida e o tempo em seus estudos na liberação de açúcares, porém, nesta pesquisa, tempos menores levaram aos maiores rendimentos da hidrólise, sendo o contrário ao encontrado neste estudo.

Pelas superfícies de resposta, pode-se perceber que para maximizar os resultados, seria necessário ampliar a faixa de tempo estudada a níveis mais altos, tomando-se os devidos cuidados para se evitar a degradação da glicose. Isso pode ser observado nos experimentos onde utilizou-se maiores tempos, obtendo-se maiores valores de glicose independentemente da condição do bagaço. Somando-se a este fator, pode-se dizer também que o aumento da concentração ácida favoreceu a reação nas duas condições do bagaço.

Após analisados os dados obtidos neste estudo, foi possível observar que o processo de secagem influenciou na reação de hidrólise ácida de forma a diminuir parcialmente a variável resposta. Comparando todos os experimentos para as duas formas de bagaço, verifica-se a superioridade da forma in natura. Ainda que o processo de secagem não influenciou de forma positiva durante a hidrólise para a obtenção de glicose, foi possível ver que no geral, a diferença não se mostrou tão discrepante. Isso nos faz refletir que esta operação unitária seria importante para aumentar a preservação deste resíduo, o que aumentaria seu tempo de uso, facilitando seu armazenamento, e ainda facilitaria o transporte, visto que seriam transportado uma quantia maior do material concentrado.

4 | CONCLUSÃO

A investigação da influência da secagem do hidrolisado do BMC com ácido sulfúrico diluído, permitiu concluir que existem diferenças significativas em alguns resultados obtidos das concentrações de glicose ao nível de 10%. Verificou-se de

forma geral que os fatores tempo de hidrólise e concentração ácida contribuíram positivamente na reação, enquanto que o fator relação mássica contribuiu de forma negativa. Para a condição in natura, as maiores respostas foram obtidas. Para o bagaço seco a 60°C, obteve-se maiores valores de glicose em concentração moderada de ácido, baixa razão de massa da solução ácida por massa do bagaço seco e para maior tempo de hidrólise. Visto que a secagem não influenciou de forma positiva a obtenção de glicose, acredita-se que o uso do bagaço in natura possa ser dificultado pela sua dificuldade de conservação e armazenamento. Assim, sugere-se o uso desta operação unitária com o intuito de obter bagaços que favoreçam o aumento da concentração de glicose, o que pode vir a ser considerado um indicador do uso deste material na produção de etanol 2G.

REFERÊNCIAS

- BES, K.; LEMÕES, J. S.; SILVA, C.F. L.; SILVA, S.D. A. **Extraction and Characterization of lignin from the pre-treatment of biomass for 2nd generation ethanol production.** Engenharia Sanitária e Ambiental. vol.24 no.1 Rio de Janeiro Jan./Feb. 2019 Epub Feb 21, 2019.
- CANIZO, J. R.; Callejas, L.C.; Serna-Saldívar S.; **Release of potentially fermentable sugars during dilute acid treatments of bermuda grass NK37 (Cynodondactylon) for second-generation ethanol production.** Journal of Chemical Technology and Biotechnolgy, v. 89, p. 1941-1947, 2014.
- DUSSÁN, K. J.; Da SILVA, D.D.V.; MORAES, E.J.C.; ARRUDA, P.V. **Dilute-acid hydrolysis of cellulose to glucose from sugarcane bagasse.** Chemical Engineering Transactions, v. 38, p. 433-438, 2014.
- EL-TAYEB, T. S.; ABDELHAFEZ, A. A.; ALI, S. H.; RAMADAN, E. M. **Effect of acid hydrolysis and fungal biotreatment on agro-industrial wastes for obtainment of free sugars for bioethanol production.** Brazilian Journal of Microbiology, p. 1523-1535, 2012.
- GÁRCIA-PEREZ, J.V.; GÁRCIA-ALVARADO, M.A.; CARCEL, J.A.; MULLET, A. **Extraction kinetics modeling of antioxidants from grape stalk (*Vitis vinifera* var. Bobal): influence of drying conditions.** Journal of Food Engineering, v.101, p.49-58, 2010.
- KATSUBE, T.; TSURUNAGA, Y.; SUGIYAMA, M.; FURUNO, T.; YAMASAKI, Y. **Effect to fair drying temperature on antioxidant capacity and stability of polyphenolic compounds in mulberry (*Morusalba* L.) leaves.** Food Chemistry, v.113, p.964-969, 2009.
- MELO, W. C.; SANTOS A. S.; SANTA ANNA, L. M.; Jr, N. P. **Acid and Enzymatic Hydrolysis of the Residue from Castor Bean (*Ricinuscommunis*L.) Oil Extraction for Ethanol Production: Detoxification and Biodiesel Process Integration.** Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 19, p. 418- 425, 2008.
- MUSSATTO, S.I.; ROBERTO, I.C. **Acid hydrolysis and fermentation of brewer's spent grain to produce xylitol.** Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 85, p. 2453-2460, 2005.

MUSSATTO, S.I.; ROBERTO, I.C. **Chemical characterization and liberation of pentose sugars from brewer's spent grain**. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, v. 81, p. 268- 274, 2006.

MUSSATTO, S.I. **Brewer's spent grain: a valuable feedstock for industrial applications**. Journal of the Science of Food and Agriculture. 94, 1264-1275, 2014.

RAVINDRAN, R.; JAISWAL, S.; ABU-GHANNAM, N.; JAISWAL, A. K. **A comparative analysis of pretreatment strategies on the properties and hydrolysis of brewers' spent grain**. Bioresource Technology 248, 272–279, 2018.

SAKAR, N.; GHOSH, S.K.; BANNERJEE, S.; AIKAT, K. **Bioethanol production from agricultural wastes: An overview**. Renewable Energy. 37, 19-27. 2012.

SILVA, C. E. F.; GOIS, G.N.S.B.; SILVA, L.M.O.; ALMEIDA, R.M.R.G.; ABUD, A.K.S. **Citric waste saccharification under different chemical treatments**. Acta Scientiarum Technology, Maringá, v. 37, n. 4, p. 387-395, oct.-dec. 2015.

SOFIYANTI, N.; FITMAWATI, D. I.; ROZA, A. A. **Stenochlaena riauensis (Blechnaceae), a new fern species from riau**, Indonesia, Bangladesh Journal of Plant Taxon 22, p. 137–141, 2015.

TORRES, C.; DÍAZ-MAROTO, M.C.; HERMOSÍN- GUTIÉRREZ, I.; PÉREZ-COELHO, M.S. **Effect of freeze-drying and oven-drying on volatiles and phenolics composition of grape skin**. Analytica Chimica Acta, v.660, p.177-182, 2010.

WIERZBA, S.; RAJFUR, M.; NABRDALIK, M.; KLOS, A. **Assessment of the influence of counter ions on biosorption of copper cations in brewer's spent grain - Waste product generated during beer brewing process**. Microchemical Journal 145, p. 196-203, 2019.

ZHANG, Y. **Reviving the carbohydrate economy via multi-product lignocelluloses biorefineries**. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, v.35, n. 5, p. 367-375, 2008.

CAPÍTULO 9

ESTUDO DA DISTRIBUIÇÃO DO TEMPO DE RESIDÊNCIA EM UM REATOR CONTÍNUO DE TANQUE AGITADO

Data de aceite: 01/09/2020

Data de submissão: 01/07/2020

Thalles de Assis Cardoso Gonçalves

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Norte de Minas Gerais, *Campus* Montes Claros
Montes Claros- MG
<http://lattes.cnpq.br/8704561079386389>

Mayara Mendes Costa

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Norte de Minas Gerais, *Campus* Montes Claros
Montes Claros- MG
<http://lattes.cnpq.br/7634698609582234>

Mariana Oliveira Marques

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Norte de Minas Gerais, *Campus* Montes Claros
Montes Claros- MG
<http://lattes.cnpq.br/3922378679907505>

Hugo Lopes Ferreira

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Norte de Minas Gerais, *Campus* Montes Claros
Montes Claros- MG
<http://lattes.cnpq.br/9732794984696544>

Robson Antônio de Vasconcelos

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Norte de Minas Gerais, *Campus* Montes Claros
Montes Claros- MG
<http://lattes.cnpq.br/9450372205648061>

Vitor Hugo Endlich Fernandes

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Norte de Minas Gerais, *Campus* Montes Claros
Montes Claros- MG
<http://lattes.cnpq.br/9420967843440581>

Mário Luiz Pereira Souza

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Norte de Minas Gerais, *Campus* Montes Claros
Montes Claros- MG
<http://lattes.cnpq.br/2681846911896508>

RESUMO: Como ferramenta didática para melhor entendimento dos alunos no ensino de Engenharia Química, no Instituto Federal do Norte de Minas Gerais do *Campus* Montes Claros-MG, foi proposto o desenvolvimento de um projeto visando o estudo da distribuição do tempo de residência em um Reator Contínuo de Tanque Agitado (CSTR). O conhecimento da distribuição do tempo de residência (DTR) nos reatores é de suma importância para caracterização da mistura que ocorre no mesmo e assim tornar o processo mais próximo do ideal, evitando os caminhos preferenciais e zona morta, que diminuem a conversão da reação. Este trabalho tem como objetivo o estudo do processo de mistura no reator CSTR a partir da determinação da DTR, com o referido reator operando em três agitações distintas. Os resultados mostraram que houve desvio da idealidade nas três condições. Ao final do projeto e com a aplicação das aulas práticas paralelas à sala de aula foi possível perceber uma maior facilidade de aprendizagem e um

maior interesse pelo conteúdo.

PALAVRAS-CHAVE: Reator CSTR, agitação, distribuição do tempo de residência, conversão.

STUDY OF THE DISTRIBUTION OF THE TIME OF RESIDENCE IN A CONTINUOUS STIRRED TANK REACTOR

ABSTRACT: As a didactic tool for better understanding of students in teaching of Chemical Engineering at the Federal Institute of Northern Minas Gerais, on the *Campus* Montes Claros-MG, it was proposed to develop a project aimed at studying the residence time distribution in a Continuous Stirred Tank Reactor (CSTR). The knowledge of the residence time distribution (RTD) in the reactors is extremely importance for characterizing the mixture that occurs in it and thus making the process closer to the ideal, avoiding the preferential paths and dead zone, which decrease the conversion of the reaction. This work aims to study the mixing process in the CSTR reactor from the determination of the DTR, with the said reactor operating in three different agitations. The results showed that there was a deviation from ideality in the three conditions. At the end of the project and with the application of practical classes parallel to the classroom, it was possible to perceive a greater ease of learning and a greater interest in the content.

KEYWORDS: CSTR reactor, agitation, residence time distribution, conversion.

1 | INTRODUÇÃO

Os reatores químicos são vasos onde ocorrem as transformações químicas de um dado processo. Eles normalmente se encontram rodeados de outras unidades destinadas a tratamentos físicos da matéria prima e dos produtos da reação. Dessa forma, uma boa eficiência na etapa de transformação química, acarretará em profundas melhorias no processo como um todo (OLIVEIRA, 2016).

Segundo Levenspiel (2000), para projetar apropriadamente um reator, é necessário, antes de tudo conhecer bem a cinética reacional, as equações de projeto e o modo de contato ou escoamento, que pode ser classificado em pistonado ou mistura perfeita.

No escoamento considerando uma mistura perfeita, as variáveis como a temperatura, concentração e velocidade de reação são constantes em relação ao tempo e a posição. Entretanto, na prática há um desvio da idealidade. Fatores como geometria do reator, regiões estagnadas ou desvio do reagente, que entra e sai do reator sem se misturar com o material contido no interior do mesmo, corrompem a característica de mistura perfeita do fluido reacional.

De modo a caracterizar a mistura que ocorre no vaso de reação, determina-se o tempo de residência, que representa o tempo que as moléculas despendem para percorrer o reator. A DTR é aferida experimentalmente com a injeção de um

determinado corante (traçador), o qual é inerte, na corrente de alimentação. Esse corante deve ter propriedades semelhantes às dos reagentes, ser completamente solúvel, facilmente detectável e não ser reativo.

De acordo com Levenspiel (2000), a partir da obtenção dos dados de concentração do traçador (C) versus tempo (t) é possível determinar a função DTR (Equação 1), que descreve em quanto tempo os elementos do fluido percorrem o reator.

$$E(t) = \frac{C(t)}{\int_0^{\infty} C(t) dt} \quad (1)$$

O tempo de residência médio (t_m) e a variância (σ^2), que indica a dispersão da distribuição, podem ser obtidos a partir da curva de DTR, conforme Equações 2 e 3, respectivamente.

$$t_m = \frac{\int_0^{\infty} t \cdot C(t) dt}{\int_0^{\infty} C(t) dt} \quad (2)$$

$$\sigma^2 = \frac{\int_0^{\infty} t^2 \cdot C(t) dt}{\int_0^{\infty} C(t) dt} \quad (3)$$

As conversões alcançadas em reatores reais, muitas vezes se aproximam da ideal. A maioria das moléculas pode residir no reator em um tempo próximo ao tempo espacial (o tempo espacial é a razão entre o volume contido no reator e a vazão volumétrica de abastecimento do mesmo). Entretanto, o comportamento do reator pode desviar de forma significativa do ideal devido a fatores como: vórtice, presença de zona morta ou curto-circuito, o que resulta em um contato menos efetivo entre as moléculas e conseqüentemente, conversões muito mais baixas do que o previsto.

O presente trabalho teve como objetivo estudar o processo de mistura do reator contínuo de tanque agitado (CSTR) em três agitações distintas, a partir do cálculo da distribuição do tempo de residência (DTR), do tempo de residência médio, e da variância, a fim de melhorar a assimilação dos conhecimentos teórico-práticos dos alunos do curso de Engenharia Química.

2 | METODOLOGIA

Os experimentos do projeto foram realizados no reator CSTR encamisado do módulo didático de Reatores, conforme Figura 1, a uma temperatura de, aproximadamente, 25°C e uma vazão do sistema a fim de obter-se um tempo espacial (τ) de 1,0 minuto. Preparou-se uma solução de azul de metileno (traçador)

na concentração de 1,0 g/L (0,1% em peso) e se utilizou água como fluido de transporte.



Figura 1- Módulo didático dos reatores PFR e CSTR

Fonte: acervo dos autores.

O módulo dispõe de três reatores de mistura (podendo operar como batelada ou CSTR) encamisados em série, de volume aproximado de 500 mL (diâmetro interno de 80 mm cada), munidos de medidores de temperatura e com pontos para coleta de amostras entre reatores. A vazão do sistema é proporcionada por duas bombas peristálticas, cada uma ligada a um reservatório para armazenamento de reagentes.

A curva DTR foi obtida a partir da injeção de azul de metileno, com o auxílio de uma seringa, num reator CSTR com volume de, aproximadamente, 400 mL e com os seguintes valores de agitações: 1434, 1545 e 1700 rpm. Em tempos pré-determinados foram coletadas amostras na saída do reator e posteriormente analisadas as suas absorvâncias através de um espectrofotômetro BEL PHOTONICS modelo 1105, no comprimento de onda de 625 nm.

3 | RESULTADOS

Nessa parte do trabalho são apresentados os resultados e discussões referentes à curva de calibração do traçador (necessária para a obtenção das concentrações do azul de metileno a partir da sua absorvância) e obtenção das curvas de DTR do reator CSTR para diferentes níveis de agitação, com intuito de

averiguar a não-idealidade proporcionada pela agitação.

3.1 Determinação da curva de calibração do traçador

A concentração do traçador (C AM) nas amostras coletadas foi dada a partir de dados de absorvância (Ab). Por meio da equação gerada pela curva de calibração (absorvância x concentração), torna-se possível converter os dados de absorvância em concentração (g/L). As absorvâncias das diluições da solução de azul de metileno usadas nos experimentos, como também a curva de calibração resultante, estão representadas na Tabela 1 e na Figura 2, respectivamente.

C AM (g/L)	Ab
0	0
0,001	0,013
0,002	0,021
0,004	0,03
0,006	0,05
0,008	0,069
0,010	0,085
0,020	0,158

Tabela 1: Absorvância das diluições do azul de metileno

Fonte: dados experimentais.

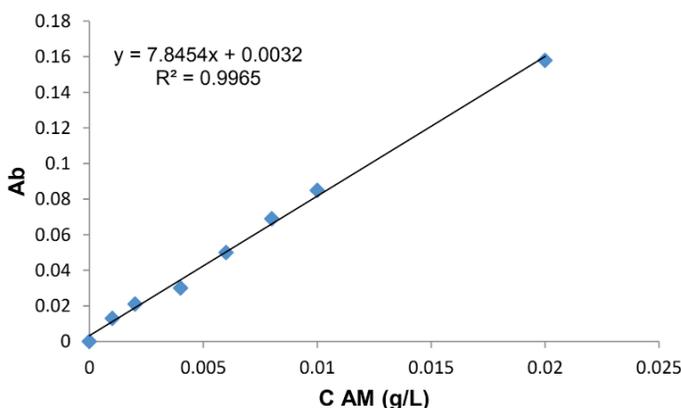


Figura 2-Curva de calibração do traçador

Fonte: dados experimentais.

Com uma perturbação em pulso, foi obtida a distribuição do tempo de residência DTR nas três agitações. Os resultados dos experimentos são apresentados a seguir.

Na Figura 3 é apresentada a distribuição do tempo de residência, e na Tabela 2 o tempo médio de residência (t_m) e a variância (σ^2).

Agitação (RPM)	τ (min)	t_m (min)	σ^2 (min ²)
1434	1	0,99	0,60
1545	1	1,20	1,34
1700	1	1,00	0,35

Tabela 2 - Resultados obtidos para o reator CSTR

Fonte: dados experimentais.

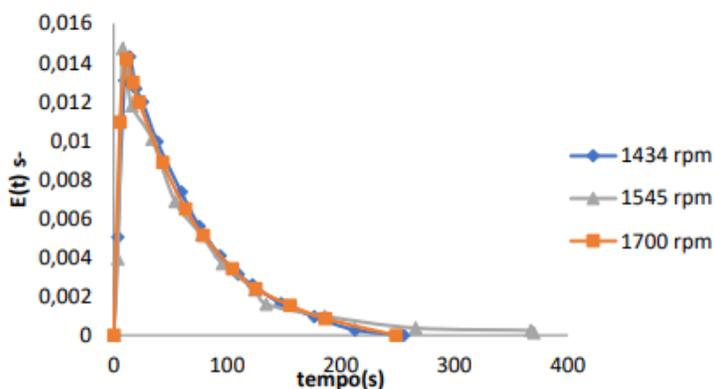


Figura 3 - Curvas DTR para o reator CSTR em diferentes agitações

Fonte: dados experimentais.

Na Figura 3, observa-se que todos os gráficos apresentam um pico inicial que sobe rapidamente, indicando a ocorrência do fenômeno de curto-circuito, em que uma parte do fluido entra no reator e sai quase que imediatamente, sem se misturar com toda a massa de fluido.

Verifica-se também a presença de uma longa cauda, caracterizando a presença de zonas mortas, onde uma parte do traçador demanda um longo tempo para deixar o reator, inclusive este fenômeno diminui o volume operacional do CSTR.

A partir da Tabela 2, nota-se que a variância para a agitação de 1545 rpm é bem superior aos demais valores de variância das agitações de 1434 e 1700 rpm. Isso pode ser explicado pelo comportamento do gráfico mostrado na Figura 3, em que a curva para 1545 rpm apresenta uma cauda muito maior do que as caudas das curvas para as agitações de 1434 e 1700 rpm.

Com base na Tabela 2, é verificado também que o fluido teve comportamento

bem próximo ao ideal nas agitações de 1434 e 1700 rpm, pois o tempo médio de residência apresentou valor próximo ou igual ao tempo espacial. Sendo que, para agitação de 1434 rpm tem-se um tempo médio de residência menor do que o tempo espacial, o que indica uma maior predominância de curto-circuito em relação às zonas estagnadas. Como o tempo médio de residência foi maior do que o tempo espacial para a agitação de 1545 rpm, é possível interpretar que houve uma maior predominância de zonas mortas nessa situação.

Na agitação mais alta (1700 rpm) houve uma maior aproximação do escoamento ideal, o que pode ser confirmado por Schmal (2013), o qual afirma que quanto maior a agitação do reator, mais uniforme se torna o perfil de velocidade, o que leva a uma maior aproximação do escoamento ideal.

4 | CONCLUSÕES

Com a realização deste trabalho, foi possível concluir que houve pequenos desvios da idealidade nos três níveis de agitação, por meio da observação da ocorrência dos fenômenos de curto-circuito e presença de zonas mortas. Sendo que o reator com maior agitação (1700 rpm) apresentou um comportamento mais próximo do ideal, seguido do reator a 1434 rpm e posteriormente, 1545 rpm.

A aplicação de aulas práticas envolvendo o estudo da não idealidade do reator CSTR a partir do conhecimento da sua DTR é muito enriquecedora para o aprendizado dos alunos, pois a aplicação das aulas práticas de modo paralelo à teoria proporcionou uma maior facilidade de aprendizagem e um maior interesse pelo conteúdo.

REFERÊNCIAS

LEVENSPIEL, O. Engenharia das Reações Químicas. 3 ed. São Paulo: Blucher, 2000.

OLIVEIRA, R. C. Estudo da Não-Idealidade de Reatores Tubulares a partir da Determinação de suas Distribuições de Tempo de Residência e Validação dos Resultados. 2016. Monografia (Graduação) - Curso de Engenharia Química, Instituto Federal do Norte de Minas Gerais – IFNMG – Campus Montes Claros, Montes Claros, 2016.

SCHMAL, M. Cinética e Reatores-Aplicação na Engenharia Química. 2.ed. Rio de Janeiro, 2013.

ESTUDO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO ÓLEO DE MARACUJÁ (*PASSIFLORA EDULIS*) UTILIZANDO O MÉTODO PETROOXY (ASTMD 7545)

Data de aceite: 01/09/2020

Yguatyara de Luna Machado

Universidade Federal do Rio Grande do Norte
<http://lattes.cnpq.br/7990322888112785>

Natalia Freitas Oliveira

Instituto Federal de Educação, Ciências e
Tecnologia do Ceará
<http://lattes.cnpq.br/9509246817924750>

RESUMO: A estabilidade oxidativa do óleo de maracujá foi avaliada utilizando o método PetroOXY (ASTMD 7545). Os ensaios oxidativos foram realizados para faixas de concentração de 0-500 ppm com o antioxidante BHA e nas temperaturas 110-140 °C. A partir dos resultados obteve-se uma entalpia de ativação aparente de (95 ± 2) kJ/mol e uma concentração crítica de $(900 \pm 0,5)$ ppm. Fatores de estabilização foram crescentes com a aditivização. O óleo de maracujá apresentou como uma possível fonte de matéria prima para a produção de biodiesel.

PALAVRAS-CHAVE: Óleo de maracujá, PetroOXY método, Cinética de oxidação, Antioxidante.

ABSTRACT: The oxidative stability of passion fruit oil was evaluated using the PetroOXY method (ASTMD 7545). Our experiments were carried out at temperatures 110-140 °C with BHA antioxidant additive concentration ranging from 0 to 500 ppm. From the results obtained, an apparent activation enthalpy of (95 ± 2) kJ/mol and a critical concentration of (900 ± 0.5) ppm.

Stabilization factors increased with additives concentrations. Passion fruit oil presented as a possible source of raw material biodiesel production.

KEYWORDS: Passion fruit oil, PetroOXY method, Kinetics of oxidation, Antioxidant.

1 | INTRODUÇÃO

Sabe-se que óleos vegetais são susceptíveis à oxidação e que fatores como luz, elevadas temperaturas, oxigênio, bem como a presença de metais podem catalisar este processo (THURGOOD, 2007), acelerando a sua degradação.

A oxidação pode ocorrer em qualquer tipo de fonte oleaginosa, visto que devido à sua estrutura química, estes possuem em sua grande maioria diferentes tipos de ácidos graxos (FA), estruturas complexas ligados a uma única molécula de triglicerol, as quais são a parte inerente do óleo vegetal. Para tanto, a presença de insaturações C=C (ácido linoléico), como também alguns fragmentos de linolênico C=C=C (ácido linolênico) constituem princípios ativos para reações de oxidação na molécula. (ADHVARYU *et al.*, 2000)

Óleos vegetais vêm adquirindo grande importância, devido às suas distintas aplicações, como por exemplo, indústria de alimentos (PARDAUIL *et al.*, 2011) aplicações farmacêuticas e industriais (tintas, borrachas, bases lubrificantes, cosméticos, etc)

(LITWINIENKO, 2001) e de combustíveis (biodiesel e bioquerosene de aviação). Com o incentivo dado à produção de biocombustíveis e com os mais diversos estudos de distintas fontes de matéria-prima para produção de biodiesel nos últimos anos o óleo extraído das sementes de maracujá (*Passiflora edulis*), destaca-se como alternativa viável.

O principal objetivo, deste estudo, consiste em avaliar a cinética de oxidação de do óleo de maracujá via PetroOXY método (ASTMD 7545) como possível matéria prima para a produção de biodiesel.

2 | METODOLOGIA EXPERIMENTAL

2.1 Materiais e reagentes

Óleo vegetal de maracujá degomado (Extrair Óleos Naturais, Brasil), ButilHidroxiAnisol (Merck, Alemanha) com grau de pureza > 98, 50 foi utilizado como antioxidante.

A **Tabela 1** mostra as principais propriedades do óleo de maracujá degomado utilizado nos ensaios oxidativos neste estudo.

Propriedades	Óleo de Maracujá
Índice de acidez (mgKOH/g)	11,35
Densidade a 20 ° C (g.cm ⁻³)	0,92
Índice de iodo (g I ₂ / 100g)	135,13

Tabela 1 - Propriedades do óleo de maracujá utilizado nos ensaios neste estudo.

Fonte: Autor

2.2 Ensaios Oxidativos

Os ensaios oxidativos da amostra de óleo de maracujá foram realizados de acordo com método PetroOXY (ASTMD 7545). O procedimento de análise consiste em inserir 5 mL de amostra em uma célula hermeticamente fechada a uma temperatura de 140 °C e pressão de oxigênio puro a 700 kPa. O tempo de indução oxidativo é alcançado quando se atinge uma queda de pressão de 10 % da pressão máxima detectada no sistema. (ARAÚJO *et al.*, 2009; MACHADO *et al.*, 2013).

O tempo de indução efetivo da amostra de óleo de maracujá com aditivo antioxidante, para as faixas de concentrações avaliadas (0 a 500 ppm), neste estudo,

foi determinado. Todos os ensaios com as amostras aditivadas foram realizados em triplicata. A **Figura 1** abaixo mostra o esquema típico para a derminação do tempo de indução efetivo mostrado no equipamento.

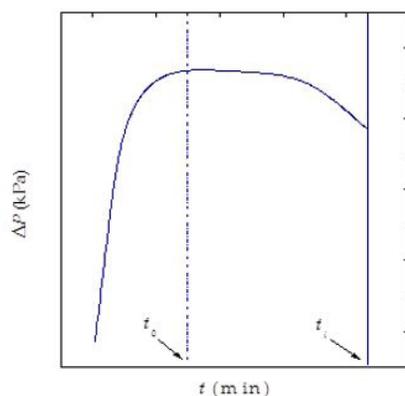


Figura 1- Perfil característico da curva de pressão durante os experimentos realizados no equipamento PetroOXY (método ASTM D7545). Tempo de indução efetivo: $\Delta t_i = t_i - t_0$

Fonte: Autor

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A **Tabela 2** mostra o resultado do tempo de indução efetivo (Δt_i) para duas corridas experimentais para a amostra de óleo maracujá. Em todas as temperaturas de ensaios oxidativos pode-se observar erros percentuais inferiores a 10 % para esta amostra. Da maior temperatura (140 °C) para a menor (110 °C) houve uma redução em seu tempo de indução efetivo de 71, 76 %.

T (°C)	Óleo de maracujá			
	110	120	130	140
Δt_i (min)	26,93	15,28	10,20	7,62
$\langle \Delta t_i \rangle$ (min)	26,97	15,22	10,28	7,60
$\langle \Delta t_i \rangle$ (min)	26,95	15,25	10,24	7,61
Erro máximo para o tempo de indução efetivo (%)	0,07	0,20	0,78	0,13

Tabela 2 - Tempo de indução efetivo, Δt_i ($\langle \Delta t_i \rangle$ valor médio para duas corridas experimentais), como função da temperatura para as amostras de óleo de maracujá.

Fonte: Autor

3.1 Modelo Cinético

O processo oxidativo pode ser realizado com o oxigênio em excesso e com sua concentração constante (WILLMS *et al.*, 1987). Logo, neste estudo, uma cinética de primeira ordem para o óleo de maracujá pode ser descrita em relação ao consumo do antioxidante BHA.

$$\frac{dC}{dt} = -k_1 C \quad (1)$$

Onde:

C consiste na concentração do antioxidante no tempo t

$$k_1 = k_{0_2} C_{0_2} \quad (2)$$

k_1 é a taxa de reação (k_{0_2} é a taxa de reação para cinética de segunda ordem e C_{0_2} é a concentração de oxigênio considerada constante).

Analisando a **Figura 1** integrando a Equação (1) entre $t = t_0$ e $t = t_p$ tem-se a Equação (3):

$$\int_{C_0 + C_{0,I}}^{C_c} \frac{dC}{C} = -k_1 \int_{t_0}^{t_i} dt \quad (3)$$

Onde:

$C_0 + C_{0,I}$ (concentração do antioxidante adicionado ao óleo e a concentração de antioxidante natural inerente ao óleo, respectivamente) e $C = C_c$ (concentração crítica na qual se dá o início da oxidação do óleo de maracujá). Reorganizando a Equação (3), obtém-se (4):

$$\ln \frac{C_c}{C_0 + C_{0,I}} = -k_1 \Delta t_i \quad (4)$$

Considerando a alta reatividade do óleo de forma que C_c foi alcançado em curtos intervalos de tempo, pode-se rearranjar a **Equação (4)** e reescrevê-la da seguinte forma:

$$\frac{C_c}{C_0 + C_{0,I}} = e^{-k_1 \Delta t_i} \quad \dots \dots \dots \quad (5)$$

Considerando que o termo $e^{-k_1 \Delta t_i}$ pode ser escrito na forma de uma série de MacLaurin, e assumindo que o produto é muito pequeno, considerou-se, somente os dois primeiros termos desta série, reescrevendo-a conforme mostra a Equação (6):

$$\frac{C_c}{C_0 + C_{0,I}} = e^{-k_1 \Delta t_i} = \sum_{i=0}^{\infty} (-1)^i \frac{(k_1 \Delta t_i)^i}{i!} \cong 1 - k_1 \Delta t_i \quad (6)$$

Rearranjando a Equação (6) tem-se que o tempo de indução efetivo obtido para o óleo de maracujá pode ser descrito pela Equação (7):

$$\Delta t_i = \frac{1}{k_0} (C_0 + \Delta C_C) \quad (7)$$

Onde:

$$k_0 = k_1(C_0 + C_{0,l}) \text{ e } \Delta C_C = C_{0,l} - C_C$$

A Equação (7) mostra uma relação não linear entre o tempo de indução efetivo e concentração de antioxidante para o óleo de maracujá. Uma relação não linear foi encontrada por McCormick *et al.*, (2007).

A **Figura 2** mostra o gráfico do tempo de indução efetivo, Δt_i , em função da concentração do antioxidante para os óleo de maracujá nas diferentes temperaturas utilizadas nos ensaios oxidativos. Os dados experimentais ajustaram-se ao modelo proposto apresentando coeficiente de correlação acima de $R^2 > 0,99$.

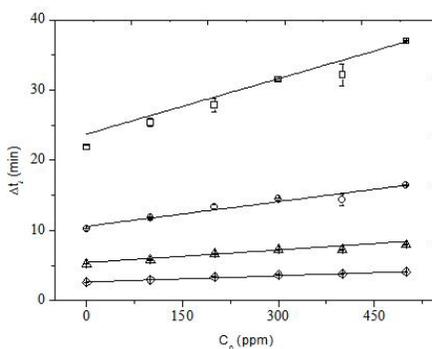


Figura 2 - Tempo de indução efetivo, Δt_i , como função da concentração de antioxidante, C_0 , em diferentes temperaturas: (Δ), $T = 130$ °C; (\diamond), $T = 140$ °C; linhas contínuas, Equação (7)/ óleo de maracujá.

Fonte: Autor

A **Tabela 3** mostra os parâmetros calculados para a cinética de ordem zero aparente para o óleo de maracujá (MACHADO *et al.*, 2014). O elevado valor para a variação da concentração crítica (900 ± 2) calculado para o óleo de maracujá pode está relacionado à formação de espécies mais reativas ocasionando o rápido consumo do antioxidante e levando a menores tempos de indução efetivos.

Óleo de maracujá	
Parâmetros	Valores
ΔC_c	$900 \pm 0,5$
ΔH_A	95 ± 2

Tabela 3 – Parâmetros cinéticos obtidos para o óleo de maracujá.

Fonte: Autor

As taxas de reação para o óleo de maracujá foram calculadas utilizando a Equação (7). A partir dos dados experimentais pode-se construir o gráfico $\ln k_1$ versus $(1/T)$ conforme mostra a **Figura 3**. Uma dependência entre as taxas de reações e temperatura absoluta $(1/T)$ foi encontrada para este óleo, de forma que a entalpia de ativação aparente pode ser calculada pela Equação de Arrhenius (8):

$$\ln k_1 = \ln k_0 - \frac{\Delta H_A}{RT} \quad (8)$$

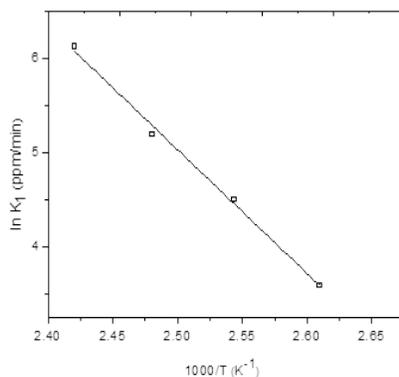


Figura 3 – Gráfico $\ln K_1$ vs temperatura absoluta $(1/T)$

Fonte: Autor

O valor da entalpia de ativação aparente ΔH_A de acordo com a **Tabela 3** para as amostras de óleo de maracujá aditivadas com o antioxidante BHA nas faixas de concentração de 0-500 ppm foi calculando, obtendo-se um valor de (95 ± 2) kJ/mol. O valor da entalpia de ativação aparente, encontrado, neste estudo, encontram-se em conformidade aos estudos reportados da literatura por Adhvaryu *et al.*, (2000) em que as energias de ativação aparente de diferentes óleos encontram-se na faixa de 60-90 kJ/mol.

3.2 Fator de Estabilização

A atividade do antioxidante pode ser representada pelo cálculo do seu fator de estabilização. (LOH *et al.*, 2005)

$$F_s = \frac{\Delta t_i}{\Delta t_{i,0}} \quad (9)$$

Onde:

$\Delta t_{i,0}$ é o tempo de indução efetivo da amostra de óleo sem a adição do antioxidante.

A **Figura 4** mostra a dependência entre o fator de estabilização e a concentração do antioxidante para a amostra de óleo de maracujá. Os fatores de estabilização para todas as temperaturas testadas foram crescentes com o aumento da concentração do antioxidante.

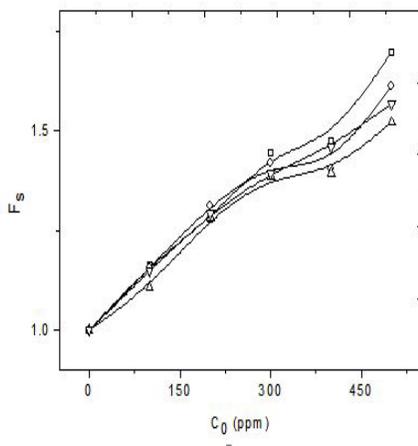


Figura 4 - Fatores de estabilização para o óleo de maracujá aditivado com o antioxidante BHA como função da concentração nos testes oxidativos sob atmosfera de oxigênio puro e pressão de 700 kPa (□), 110 °C; (o), 120 °C; (Δ), 130 °C; (▽), 140 °C.

Fonte: Autor

4 | CONCLUSÃO

A estabilidade oxidativa do óleo de maracujá foi investigada utilizando o método PetroOXY (ASTMD 7545). Uma cinética de ordem zero aparente foi descrita pelos curtos intervalos de tempo adequando-se, claramente, aos dados experimentais. Os fatores de estabilização foram crescentes com a adição do antioxidante. O óleo de maracujá apresentou como uma possível fonte de matéria prima para a produção de

biodiesel, no entanto faz-se necessária a adição de aditivo antioxidante.

REFERÊNCIAS

ADHVARYU, A.; ERHAN, S.Z.; LIU, Z.S.; PEREZ, J.M. **Oxidation kinetic studies of oils derived from unmodified and genetically modified vegetables using pressurized differential scanning calorimetry and nuclear magnetic resonance spectroscopy.** *Thermochim Acta* 364:87–97, 2000.

LITWINIENKO, G. **Autooxidation of unsaturated fatty acids and their esters.** *J Therm Anal Calorim* 65:639–646, 2001.

LOH, S.K.; CHEW, S.M.; CHOO, Y.M. **Oxidative stability and storage behavior of fatty acid methyl esters derived from used palm oil.** *J Am Oil Chem Soc* 83:947–952, 2005.

MCCORMICK, R.L, RATCLIFF, M, MOENS, L.; LAWRENCE, R. **Several factors affecting the stability of biodiesel in standard accelerated tests.** *Fuel Process Technol* 88:651-657,2007.

MACHADO, Y.L.; TELES, U.M, DANTAS NETO, A. A.; DANTAS, T.N.C; FONSECA, J.L.C. **Determination of antioxidant depletion kinetics using ASTM D 7545 as the accelerated oxidation method.** *Fuel.* 112:172–177,2013.

MACHADO, Y.L, DANTAS NETO A.A, DANTAS TNC, FONSECA, J.L.C. **Antioxidant Stability in Vegetable Oils Monitored by the ASTM D7545 Method.** *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 91, p. 1139-1145, 2014.

PARDAUIL, J.J.R.; SOUZA, L.K.C.; MOLFETTA, F.A; ZAMIAN, J.R, ROCHA, G.N, DA COSTA, C.E.F. **Determination of the oxidative stability by DSC of vegetable oils from the Amazonian area.** *Bioresour Technol.*102:5873–5877,2011.

THURGOOD, J.; WARD, R.; MARTINI, S. **Oxidation kinetics of soybean oil/anhydrous milk fat blends: a differential scanning calorimetry study.** *Food Res Int* 40:1030-1037,2007.

WILLMS, R. S.; BALINSKY, A. M.; REIBLE, D.D.; WETZEL, D.M.; HARRISO, D.P. **Aqueous-phase oxidations: the intrinsic kinetics of single organic compounds.** *Industrial Engineering Chemical Research.*, v. 26, p. 148-154,1987.

ESTUDO DO COMPORTAMENTO DA GOMA DE LINHAÇA EM MEIO AQUOSO POR ESPALHAMENTO DE LUZ DINÂMICO E REOLOGIA

Data de aceite: 01/09/2020

Data de submissão: 05/06/2020

Laura Gabriela Gurgel de Carvalho

Universidade Federal do Rio Grande do Norte
LAPET
Natal – Rio Grande do Norte
<http://lattes.cnpq.br/1269987827095427>

Nívia do Nascimento Marques

Universidade Federal do Rio Grande do Norte
LAPET
Natal – Rio Grande do Norte
<http://lattes.cnpq.br/6620063682882340>

Mariana Alves Leite Dutra

Universidade Federal do Rio Grande do Norte
LAPET
Natal – Rio Grande do Norte
<http://lattes.cnpq.br/7926629027032658>

Marcos Antonio Villetti

Universidade Federal de Santa Maria
LEPOL
Santa Maria – Rio Grande do Sul
<http://lattes.cnpq.br/8504489050993642>

Rosângela de Carvalho Balaban

Universidade Federal do Rio Grande do Norte
LAPET
Natal – Rio Grande do Norte
<http://lattes.cnpq.br/7711521318854102>

RESUMO: Neste trabalho, o comportamento da goma de linhaça em meio aquoso foi acompanhado por medidas do raio hidrodinâmico

(R_h) do polímero, por espalhamento de luz dinâmico, e por medidas de viscosidade aparente (h), em reômetro rotacional. Foram levados em consideração os efeitos da filtração da solução, do pH e da salinidade do meio aquoso. Por espalhamento de luz dinâmico, detectou-se a presença de três diferentes populações de partículas poliméricas, atribuídas a moléculas isoladas e agregados poliméricos, que foram parcialmente removidos após filtração das soluções, evidenciando que a filtração pode remover a fração de polímeros que mais contribui para o aumento da viscosidade. As mudanças de pH (3 a 13) e de salinidade ($\text{NaCl } 10^{-2}$ e 10^{-1} mol/L⁻¹) resultaram em mudanças significativas no raio hidrodinâmico das moléculas poliméricas. Os valores máximos de R_h e de h foram observados para pH 7-9, e os mínimos em pH 13, que foram atribuídos principalmente aos grupos ácidos (-COOH) presentes na estrutura polimérica, que são ionizados em pH alcalino, expandindo a cadeia polimérica, mas são blindados pelos cátions das bases em valores muito altos de pH, contraíndo o novelo polimérico. A adição de NaCl reduziu sensivelmente o raio hidrodinâmico do polímero em meio aquoso.

PALAVRAS-CHAVE: Goma de linhaça, pH, raio hidrodinâmico, DLS.

ESTUDY OF FLAXSEED GUM BEHAVIOR IN AQUEOUS MEDIUM THROUGH DYNAMIC LIGHT SCATTERING AND RHEOLOGY

ABSTRACT: In this work, the behavior of the flaxseed gum in aqueous medium was followed

by measurements of the polymer hydrodynamic radius (R_h), by dynamic light scattering, and measurements of apparent viscosity (h), in a rotational rheometer. The effects of filtration, pH and salinity of the polymer solution were taken into account. By dynamic light scattering, it was detected the presence of three different populations of polymeric particles, attributed to isolated molecules and polymer aggregates, which were partially removed after solutions filtration, showing that the filtration can remove the polymer fractions that most contribute to the increase of viscosity. The changes in pH (3 to 13) and salinity (NaCl 10^{-2} and 10^{-1} mol/L $^{-1}$) showed significant changes in the hydrodynamic radius of the polymer molecules. The maximum values of R_h and h were observed at pH 7-9, and the minimum at pH 13, which were attributed to the acid groups (-COOH) present in the polymer structure, which are ionized in alkaline pH, expanding the polymer chains, but are shielded by base cations at very high pH values, contracting the polymer coils. The addition of NaCl significantly reduced the polymer hydrodynamic radius in aqueous medium.

KEYWORDS: Flaxseed gum, pH, hydrodynamic radius, DLS.

1 | INTRODUÇÃO

O estudo de biopolímeros apresenta sempre grande relevância, especialmente pelo fato de serem obtidos de fontes renováveis e por possuírem ampla diversidade de estruturas e propriedades físico-químicas, que possibilitam numerosas estratégias de uso em diversos segmentos industriais (Kuhn *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2010).

No caso da goma de linhaça, biopolímero derivado da casca da semente da linhaça, as propriedades físico-químicas podem apresentar comportamentos diferentes dependendo do cultivo, condições climáticas, espécie de linhaça e até mesmo das condições de extração (Cui *et al.* 1994; Wannerberger *et al.* 1991).

Portanto, torna-se interessante um estudo sistemático, considerando a escolha de uma espécie, de preferência da mesma colheita, assim como uma condição de extração ótima, buscando compreender melhor a identidade das propriedades do polímero, para identificar potenciais aplicações (Michotte *et al.*, 2011).

A goma de linhaça é composta de polissacarídeos ácidos e neutros. A fração neutra é constituída principalmente por xilose em sua cadeia principal, conferindo rigidez a essa fração, que tem conformação do tipo novelo aleatório. Já a fração ácida é composta principalmente por ramnose (metil-pentose) e ácido galacturônico (substrato proveniente da oxidação do carbono-6 da galactose). Este grupamento ácido confere ao polímero uma natureza aniônica a partir de pH 6. Também apresenta ramificações curtas ao longo da cadeia principal e conformação do tipo estrela, com alta flexibilidade (Qian *et al.* 2012, Cui *et al.* 1994; Fedeniuk e Biliaderis, 1994).

Alguns estudos têm sido realizados no sentido de investigar as propriedades

da goma da linhaça em diferentes sistemas aquosos (Goh *et al.* 2006; Khalloufi *et al.* 2008). Entretanto, até o presente momento, não foram encontradas informações mais detalhadas sobre a influência de variáveis, tais como pH e salinidade, nos parâmetros moleculares, ou mesmo na estabilidade das soluções.

2 | EXPERIMENTAL

2.1 Materiais

A linhaça foi adquirida em mercado local de grãos (Natal-RN). Cloreto de sódio e hidróxido de sódio foram adquiridos da Êxodo. Ácido clorídrico e álcool etílico PA foram obtidos da Synth. Com exceção da linhaça, os materiais foram utilizados sem purificação prévia.

2.2 Extração da goma de linhaça

A extração foi conduzida de acordo com a metodologia adotada por Qian (2012), mas com algumas modificações. A extração do polímero foi realizada a partir de 15% (m/m) da semente de linhaça marrom em meio aquoso, sob agitação branda, por 8 horas, a 25 °C. A mucilagem obtida foi centrifugada em centrífuga Himac CR 21G, a 8000 rpm, durante 15 minutos, para a retirada de impurezas em suspensão. Em seguida, foi adicionado etanol PA ao sobrenadante, em proporção 1:1 v/v (sobrenadante/etanol), para a precipitação do polímero, que foi recolhido após centrifugação a 6000 rpm durante 5 minutos. Por fim, o polímero foi disperso em água destilada e liofilizado em liofilizador da Thermo Savant - ModulyoD.

2.3 Medidas de espalhamento de luz dinâmico (DLS)

As análises de DLS foram realizadas utilizando um equipamento da Brookhaven Instrument. As medidas foram realizadas a um ângulo de espalhamento de 90° e a temperatura de 25°C. Um laser de He-Ne ($\lambda = 632,8$ nm) foi usado como fonte de luz. As distribuições de tempos de relaxação A (τ) foram obtidas a partir da intensidade da função de autocorrelação, utilizando o programa GENDIST, que emprega o algoritmo REPES.

As soluções aquosas de goma de linhaça foram preparadas por dispersão do polímero em água destilada, sob agitação constante, por cerca de 12 horas, na concentração de 1g/L (regime diluído), em diferentes valores de pH (3-13) e com a combinação dos efeitos de pH (3-11) e sal (NaCl 10^{-2} e 10^{-1} mol/L). Nesse último caso, o sal foi adicionado após dissolução do polímero no meio de pH ajustado. As medidas foram realizadas utilizando as soluções poliméricas centrifugadas, antes e após filtração em membranas de acetato de celulose com diâmetro de poro de 0,45 μm .

2.4 Reometria

As análises reológicas foram realizadas em um reômetro da Haake-Mars, utilizando um sensor de cilindros coaxiais DG41 e um banho termostático acoplado ao equipamento. A viscosidade das soluções poliméricas foi medida em função da taxa de cisalhamento (1 a 100 s^{-1}), a uma temperatura constante de $25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

As soluções de linhaça foram preparadas conforme descrito no item 2.3. Entretanto, para o estudo reológico, a concentração de polímero utilizada foi de 10 g/L .

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Espalhamento de luz dinâmico

O estudo de DLS foi realizado com o objetivo de verificar o efeito da filtração, do pH e da salinidade das soluções poliméricas sobre o raio hidrodinâmico (R_H) do polímero e, assim, correlacionar esse efeito com as propriedades reológicas das soluções.

A Figura 1 apresenta as curvas de correlação temporal e distribuição dos tempos de relaxação das amostras de linhaça em diferentes valores de pH, antes da filtração (GLAF) e depois da filtração (GLDF). E a Tabela 1 apresenta os respectivos valores de raio hidrodinâmico obtidos para cada uma das populações. Em todos os casos avaliados, foram observadas três populações distintas. Além disso, o tempo de relaxação de cada uma dessas populações é sempre menor para as amostras filtradas. Esse resultado pode ser explicado em decorrência da filtração promover a remoção de partículas maiores (possivelmente agregados) em solução.

Todas as curvas da função de correlação (Figura 1) evidenciaram deslocamentos entre os resultados de GLAF e GLDF, obtendo-se um maior tempo de relaxação para GLAF. Observou-se também que, com o aumento do pH, o deslocamento entre as curvas de correlação GLAF e GLDF diminuiu.

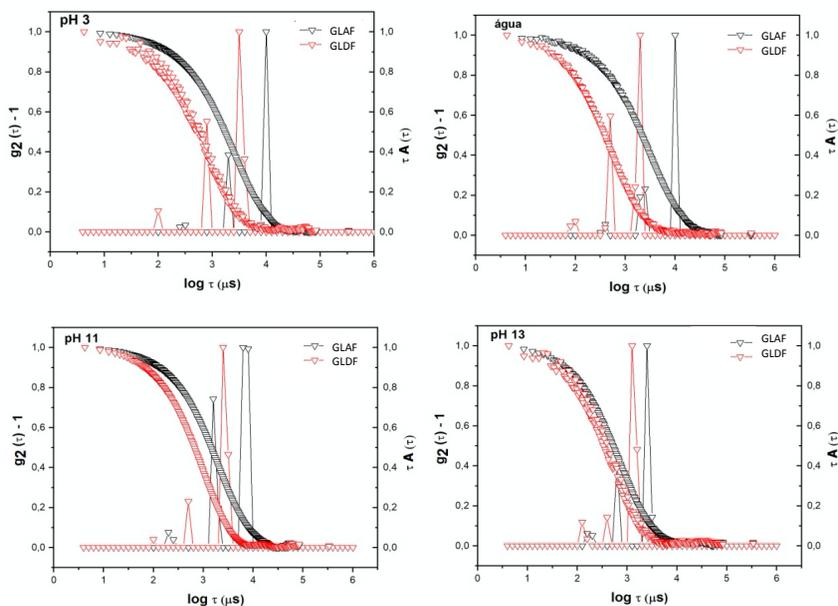


Figura 1 - Curvas de correlação temporal e distribuição dos tempos de relaxação das amostras de goma de linhaça em diferentes valores de pH, antes da filtração (GLAF) e depois da filtração (GLDF)

A fração ácida da goma de linhaça encontra-se em sua forma não ionizada em meio ácido, favorecendo as forças intermoleculares atrativas por ligações de hidrogênio entre as hidroxilas contidas na cadeia. Dessa forma, agregados de maior tamanho podem ser formados. À medida em que o pH do meio é elevado, essa população tem um decréscimo no valor de R_H , como apresentado na Tabela 1. O aumento do pH propicia a ionização dos grupos ácidos, gerando cargas negativas e, assim, repulsões eletrostáticas entre as cadeias poliméricas, diminuindo o tamanho dos agregados.

As populações de menor R_H das amostras filtradas (GLDF) podem ser atribuídas às cadeias isoladas da fração ácida e neutra (Goh *et al.* 2006; Qian 2014).

Amostra	R_H (nm)						
	pH 3	pH 5	pH 7	pH 9	pH 11	pH 13	Água destilada
GLAF	28	20	44	26	21	17	37
	200	200	200	172	166	63	224
	1000	1584	1333	1700	704	258	1000

GLDF	12	10	10	12	10	13	10
	100	80	50	73	50	39	50
	333	335	239	274	268	135	190
GLAF (NaCl 10 ⁻² M)	31	nd	29	60	87	nd	38
	194	nd	256	314	398	nd	250
	819	nd	1052	1321	-	nd	1466
GLAF (NaCl 10 ⁻¹ M)	16	nd	27	29	12	nd	45
	71	nd	218	144	55	nd	251
	438	nd	1338	1000	237	nd	502

Tabela 1 – Raio hidrodinâmico para o polímero de linhaça em meio aquoso (pH 3-13, NaCl 10⁻² mol/L e NaCl 10⁻¹ mol/L)

nd: não determinado

De acordo com os dados da Tabela 1, houve uma tendência de diminuição do R_H com o aumento da concentração de sal e em pH extremos, pH 3 e 11. Em pH 3, a fração ácida da goma de linhaça encontra-se não ionizada, assim como a fração neutra, o que favorece as interações associativas entre as cadeias poliméricas através de ligações de hidrogênio. Com a adição de sal ao meio aquoso, ocorre o efeito *salting out*, que promove o aumento das interações intramoleculares e intermoleculares entre as cadeias poliméricas, reduzindo o raio hidrodinâmico das partículas poliméricas. Em pH 11, a fração ácida da goma de linhaça encontra-se com os seus grupos ácidos ionizados, ou seja, carregados negativamente, o que leva a repulsões eletrostáticas entre as cadeias. Com a adição de sal, esses grupos aniônicos são blindados pelos cátions do sal, diminuindo as repulsões eletrostáticas e favorecendo as interações associativas intermoleculares e intramoleculares entre as cadeias poliméricas. O que leva à redução de R_H .

3.2 Reometria

O comportamento reológico das soluções de goma de linhaça em função do pH é ilustrado na Fig. 2. Houve uma diminuição da viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento em todos os valores de pH avaliados, o que caracteriza o comportamento pseudoplástico das soluções. Na faixa de pH entre 3 e 9, a viscosidade aumentou em função do aumento do pH, o que pode ser explicado pela crescente ionização dos grupos carboxilato presentes nas unidades de ácido galacturônico da fração ácida da goma de linhaça. A ionização dos grupos carboxilato leva à expansão do novelo polimérico no meio aquoso, devido às repulsões eletrostáticas intramoleculares e intermoleculares, promovendo o aumento na viscosidade. Entretanto, com o aumento do pH para 11 e 13, houve uma diminuição

na viscosidade das soluções, o que foi observado também por outros autores (Qian 2014; Khalloufi *et al.* 2008; Chen *et al.* 2006). Em soluções alcalinas de alto pH, a concentração de cátions (contra-íons da base) no meio, também é bastante alta, o que pode levar à blindagem dos ânions carboxilato da cadeia polimérica. Com isso, ocorre contração do novelo polimérico e, conseqüentemente, diminuição da viscosidade da solução (Lucas *et al.* 2001).

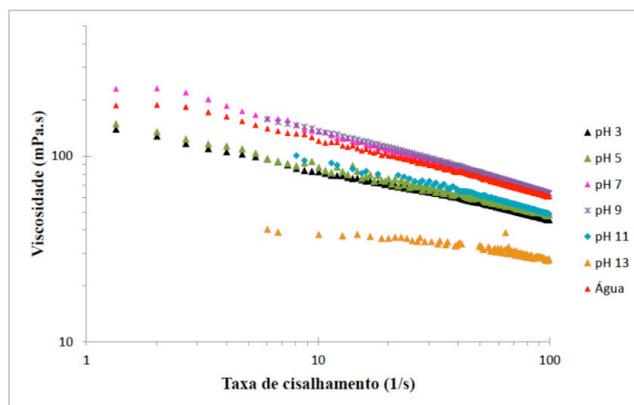


Figura 2 – Curva de viscosidade para as soluções de goma de linhaça em pH 3-13, à concentração de polímero 10 g/L e 25°C.

A Figura 3 ilustra a evolução do raio hidrodinâmico da goma de linhaça (GLAF) e da viscosidade aparente das soluções aquosas com o aumento do pH. Os dados de R_H são referentes às populações das macromoléculas maiores, que influenciam mais significativamente o comportamento reológico das soluções poliméricas. Os resultados evidenciam a forte correlação entre o raio hidrodinâmico das partículas poliméricas e a viscosidade, que evoluem na mesma direção, ou seja, o aumento ou diminuição em R_H , provoca aumento ou diminuição na viscosidade da solução. E, para a goma de linhaça, os maiores raios hidrodinâmicos e maiores viscosidades são observados na região de pH 7-9, onde ocorre maior expansão das cadeias poliméricas.

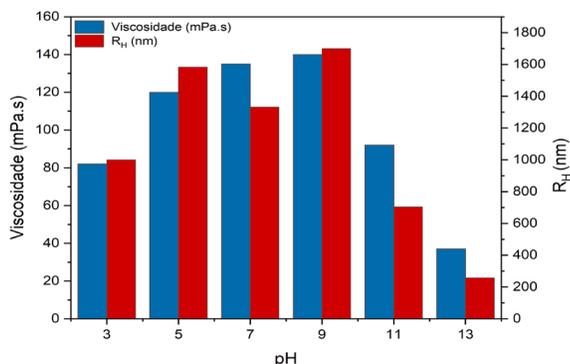


Figura 3 – Viscosidade aparente à taxa de cisalhamento 10 s^{-1} para soluções da goma de linhaça a 10 g/L , e raio hidrodinâmico da goma de linhaça (GLAF) em pH 3-13.

4 | CONCLUSÕES

Através das medidas de espalhamento de luz dinâmico (DLS) foi possível verificar que a filtração das soluções provoca mudanças significativas nos R_H das populações encontradas, principalmente as de maiores tamanhos de partícula, que são eliminadas pelo filtro. Pode-se considerar, ainda, que o efeito do pH e da salinidade nas medidas de DLS e reometria se dão, principalmente, pelas mudanças de conformação da fração ácida da macromolécula e interações intramoleculares e intermoleculares entre as cadeias poliméricas. A análise conjunta dos resultados de DLS e de reometria contribuíram efetivamente para a melhor compreensão do comportamento de fluxo das soluções aquosas de linhaça.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Os autores também agradecem ao apoio financeiro da PETROBRAS.

REFERÊNCIAS

CHEN, H-H; XU, S-Y; WANG, Z. Gelation properties of flaxseed gum. **Journal of Food Engineering**, v.77, p. 295-303. 2006.

CUI, W.; MAZZA, G.; BILIADERIS, C. G. Chemical Structure, Molecular Size Distributions, and Rheological Properties of Flaxseed Gum. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 42, n. 9, p.1891-1895, 1994.

FEDENIUK, R. W.; BILIADERIS, C. G. Composition and Physicochemical Properties of Linseed (*Linum usitatissimum* L.) Mucilage. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 42, n. 2, p.240-247, 1994.

GOH, K. T. et al. Rheological and Light Scattering Properties of Flaxseed Polysaccharide Aqueous Solutions. **Biomacromolecules**, v. 7, n. 11, p.3098-3103, 2006.

KHALLOUFI, S. et al. Physicochemical properties of whey protein isolate stabilized oil-in-water emulsions when mixed with flaxseed gum at neutral pH. **Food Research International**, v. 41, n. 10, p.964-972, 2008.

KUHN, K. R.; CAVALLIERI, A. L. F.; CUNHA, R. L. Cold-set whey protein–flaxseed gum gels induced by mono or divalent salt addition. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 5, p.1302-1310, 2011.

LUCAS, E. F.; SOARES, B. G.; M. MONEIRO, E. E. C. **Caracterização de Polímeros: Determinação de peso molecular e análise térmica**. Rio de Janeiro: E-papers, v. 1, 1-366. 2001.

MICHOTTE, D. et al. Linseed oil stabilisation with pure natural phenolic compounds. **Food Chemistry**, v. 129, n. 3, p.1228-1231, 2011.

QIAN, K. Y. et al. Flaxseed gum from flaxseed hulls: Extraction, fractionation, and characterization. **Food Hydrocolloids**, v. 28, n. 2, p.275-283, 2012.

QIAN, K-Y. **Structure-Function Relationship of Flaxseed Gum from Flaxseed Hulls**. Orientador: H. Douglas Goff. 2014. Tese (Doutorado em Filosofia em Ciência dos Alimentos) – Curso de Philosophy In Food Science, Food Science, Universidade de Guelph, Guelph, 2014.

WANG, Y. et al. Effects of drying methods on the functional properties of flaxseed gum powders. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, n. 1, p.128-133, 2010.

WANNERBERGER, K.; NYLANDER, T.; NYMAN, M. Rheological and Chemical Properties of Mucilage in Different Varieties from Linseed (*Linum usitatissimum*). **Acta Agriculturae Scandinavica**, v. 41, n. 3, p.311-319, 1991.

CAPÍTULO 12

ESTUDO FITOQUÍMICO, MORFOLÓGICO E AVALIAÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO, DAS FOLHAS DO PAU MOCÓ (*Luetzelburgia auriculata*), QUANTO ÀS ATIVIDADES CONTRA AGENTES VETORIAIS E ANTIOXIDANTE

Data de aceite: 01/09/2020

Antônio Marcelo Alves Lima

Universidade Estadual do Ceará, Centro de Ciências e Tecnologias/Química Licenciatura
Plena
Fortaleza-CE

Eveline Solon Barreira Cavalcanti

Universidade Estadual do Ceará, Centro de Ciências e Tecnologias/Química Licenciatura
Plena
Fortaleza-CE

André Castro Carneiro

Universidade Estadual do Ceará, Centro de Ciências e Tecnologias/Química Licenciatura
Plena
Fortaleza-CE

Lara Pinheiro Xavier

Universidade Estadual do Ceará, Centro de Ciências e Tecnologias/Química Licenciatura
Plena
Fortaleza-CE

Henety Nascimento Pinheiro

Universidade Estadual do Ceará, Centro de Ciências e Tecnologias/Química Licenciatura
Plena
Fortaleza-CE

Brício Thiago Pinheiro

Universidade Estadual do Ceará, Centro de Ciências e Tecnologias/Química Licenciatura
Plena
Fortaleza-CE

RESUMO: A flora nordestina é um acervo biológico rico em uma ampla biodiversidade e sua especiação histológica é reduzida. Neste trabalho, avaliou-se o potencial da espécie *Luetzelburgia auriculata* Ducke, popularmente denominada por pau-mocó, uma espécie nativa do Nordeste, através da sua caracterização fitoquímica, pela identificação dos seus metabólitos secundários e atividade antioxidante; morfológica, através do seu perfil morfoanatômico; e biológica, submetendo extratos etanólicos a ensaio com agentes vetoriais potencialmente perigosos, *Aedes aegypti*, *Haematobia irritans*, *Diabrotica speciosa* e *Triatoma infestans* em diferentes estágios vitais e em ambientes adequados. As folhas da espécie foram obtidas na Universidade Estadual do Ceará e catalogadas no Herbário Prisco Bezerra, na Universidade Federal do Ceará. Os resultados deste trabalho foram utilizados para enriquecer as informações a respeito da espécie.

PALAVRAS-CHAVE: *Luetzelburgia auriculata* Ducke, Pau-mocó, Caracterização fitoquímica, Ensaio epidemiológico.

PHYTOCHEMICAL STUDY AND EVALUATION OF THE ETHANOLIC EXTRACT OF THE LEAVES OF THE PAU-MOCO (*Luetzelburgia auriculata*), REGARDING THE ACTIVITIES AGAINST VECTORIAL AGENTS AND ANTIOXIDANT

ABSTRACT: The northeastern flora is a biological collection rich in a wide biodiversity and its historical specification is reduced. In this work, we analyzed the potential of the species *Luetzelburgia auriculata* Ducke, popularly

called pau-moco, a native species from the northeast, through its phytochemical characterization, the identification of its secondary metabolites and antioxidant activity; morphological, through its morphofanatomic profile; and biological, subjecting ethanolic extracts to tests with potentially dangerous vector agents, *Aedes aegypti*, *Haematobia irritans*, *Diabrotica speciosa* and *Triatoma infestans* in different vital stages and in domestic environments. As leaves of the species were isolated in the State University of Ceara and categorized in Herbarium Prisco Bezerra, in the Federal University of Ceara. The results of this work were used to enrich as information about the species.

KEYWORDS: *Luetzelburgia auriculata* Ducke, Pau-moco, Phytochemical characterization, Epidemiological Trial.

1 | INTRODUÇÃO

A *Luetzelburgia auriculata* (Alemão) Ducke, Fabaceae, subfamília Faboideae é uma planta nativa do Nordeste brasileiro, principalmente no estado do Piauí, sul cearense, sendo reconhecida pelos nomes populares de pau-mocó, pau-serrote, pau-de-chapada. Apesar de oriunda do bioma da Caatinga, em virtude da existência de estômatos em depressão e cutículas espessadas, a planta consegue adaptar-se a outros biomas e domínios morfológicos, sendo observada também no Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal (LORENZI 2008), como descreve a figura 1.



Figura 1: Disseminação da espécie *Luetzelburgia auriculata* no Brasil

Fonte: Autor próprio.

Caracterizada por ser uma planta perenifólia, as estruturas foliares da *Luetzelburgia auriculata* conseguem permanecer esverdeadas durante o ano inteiro, em cada 3 anos, onde introduziu-se o período germinativo e florado da espécie.

Apresenta expectativa de vida prolongada, copa reduzida a média de coloração acinzentada, estatura aproximada entre 5 a 22m de comprimento e rusticidade (FONSECA e MORAIS, 1930).

A planta é bastante atrativa por determinadas peculiares que demonstra, a citar, a repreensão sob outras espécies de plantas e animais, que não desenvolvem-se próxima à raiz, sequer aproveitam das vantagens (alimentação, sombra, moradia), devido ao graduado nível de toxicidade apresentado pelas folhas. O consumo excessivo da folha pode ocasionar desde problemas intestinais (deterrência), problemas nervosos a complicações graves (coma, morte). Embora provoque danos aos seres que a ingerem, a planta é diversamente usada em outras áreas. Por exemplo, as raízes eram bastante consumidas durante períodos de escassez de recursos hídricos; O caule é usando na fabricação de móveis; A própria estrutura da planta é usada para o paisagismo e ações reflorestais (VASCONCELOS, 2012).

As propriedades a respeito da espécie são bastante escassas, o que dificulta a construção de um perfil anatômico sobre a mesma. Desta forma, esta pesquisa prontifica-se a realizar uma caracterização da planta através de testes de cunho fitoquímico, prospectivo, histológico e biológico contribuindo para enriquecer o perfil químico e biológico da espécie *Luetzelburgia auriculata*.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

A extração farmacognóstica seguiu uma metodologia vigente de Barreiro e Fraga (2001). O órgão da planta selecionado para extração dos componentes metabólitos foi as folhas do pau mocó. Para tal, foram coletadas amostras na cidade de Fortaleza-CE, na Universidade Estadual do Ceará, classificadas de acordo com as condições do ambiente, horário de extração e nome científico identificado no Herbário Prisco Bezerra, na Universidade Federal do Ceará. Foram dessecadas 90 g das folhas e maceradas de modo a reduzi-las a pequenos fragmentos. Os fragmentos foram imersos em 120 mL álcool etílico PA, à temperatura ambiente, sob extração a frio, durante sete dias. Em seguida, com o auxílio de um rotaevaporador QUIMIS Q344B, foi eliminado o solvente, sob pressão reduzida, e obteve-se os extratos etanólicos das folhas.

2.1 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante, do extrato etanólico das folhas do vegetal, foi determinada usando-se 1,1-difenil-picrilhidrazila (DPPH). À sequência que o DPPH é reduzido por um antioxidante, desaparece a banda de absorção em 517 nm. As medidas foram feitas adicionando à amostra uma mistura contendo 1mL de solução-tampão acetato 100 mM, pH 5,5, 1 ml de etanol e 0,5 ml de DPPH 500mM. Logo após,

a absorvância foi calculada em 517 nm, de acordo com a literatura estabelecida por Bloiss (1998). A metodologia utilizada para atividade antioxidante foi realizada em triplicata para cada concentração analisada. Os resultados foram posteriormente analisados estatisticamente.

2.2 Prospecção fitoquímica (segundo Matos, 1997)

2.2.1 Determinação de fenóis e taninos

A qualificação para fenóis e taninos foi feita usando-se uma versão adaptada do reativo de Lucas conforme descreve Shriner, Fuson e Curtin (1977). Neste, é usado uma solução alcóolica de cloreto de ferro (III) a 10%. Formação do complexo ferro-fenol (III) descreve a presença de fenóis; sua oxidação em banho-maria a complexo polifenólico de ferro (II) escurecido e (III), esverdeado, descrevem a presença de taninos hidrolisáveis e condensados. Para cálculo, foi analisada a absorvância a partir do comprimento 765nm.

2.2.2 Determinação de flavonóides

Para a determinação de flavonóides usou-se 2mL do extrato etanólico diluído o qual foi acrescido de 1,0 cm de fita de magnésio com 2,0 ml de ácido clorídrico concentrado. Após a reação observou-se a mudança de coloração.

2.2.3 Identificação de alcaloides

O extrato etanólico foi concentrado e solubilizado em 3 mL de ácido clorídrico 2%. Logo após, foram divididos em duas porções iguais, nas quais foram gotejadas aos poucos os reagente de Mayer e reagente de Dragendorff, respectivamente. Após agitação foi avaliado o aparecimento ou a ausência de precipitados que indicam a presença de alcalóides.

2.2.4 Saponinas

O extrato etanólico foi agitado por quatro minutos, após ser aquecido em banho-maria. A formação consistente e intermitente de espuma resulta na identificação de saponosídeos.

2.2.5 Teste para triterpenoides e esteroides e antocianinas

As frações foram submetidas à reação de Liebermann-Burchard, que consiste na adição de anidrido acético e ácido sulfúrico concentrado para identificação de triterpenoides e esteroides; e a fração aquosa ácida foi alcalinizada até a faixa de pH 9-11, apresentando coloração característica para identificação de antocianinas.

Os resultados obtidos nos testes realizados na triagem fitoquímica foram estabelecidos conforme os seguintes parâmetros:

Fortemente positivo: (+++)

Moderadamente Positivo: (++)

Positivo: (+)

Negativo: (-)

2.3 Ensaio com agentes vetoriais

Foram preparadas soluções do extrato etanólico do vegetal com diferentes concentrações de crescimento 0.5x. Foram classificadas em amostras A, B e C. As concentrações de substrato foram niveladas em notações de 10^{n+1} a partir de soluções aquosas iniciais de 10 v/v% com crescimento exponencial de disperso por dispensante. As espécies vetoriais selecionadas foram *Aedes aegypti* (todos os estágios), *Haematobia irritans* (estágio adulto), *Diabrotica speciosa* (estágio adulto) e *Triatoma infestans* (estágio adulto). Propõem-se uma ambientação adequada para incubar as espécies. Todo o procedimento foi realizado com participação e orientação da Agência de Combate às Epidemias e Secretaria de Saúde da cidade de Iracema-CE. O método para esta alternativa é a dissolução vaporizada dos extratos sob estas superfícies. As concentrações usadas seguiram o método de Rouquayrol (1993), e o critério usado para avaliar o êxito neste experimento foi o extermínio de larvas e desenvolvimento das formas.

2.4 Análise de pecíolo

No teste de pecíolo folicular, careceu-se cortar uma folha da planta em partes reduzidas e formato transversal e imersas em água, em uma placa de Petri. Em si, foram acrescentadas colorações bioativas para melhor análise das estruturas foliares e do perfil morfoanatômico da espécie, e observados em microscópio de marca Nikon E200 com auxílio de lamínulas. O corte do pecíolo, auxiliado por uma diagnose microscópica da folha, possibilita uma análise morfoanatômica da espécie, como a identificação dos fatores intendentos pela independência de água na planta para o processo de germinação, e por apresentar folhas em tons esverdeados durante todo ano, mesmo em períodos de escassez de recursos hídricos;

2.5 Avaliação de citotoxicidade

A avaliação citotóxica de uma substância pode ser definida como uma caracterização quali-quantitativa do potencial de consequências adversas à saúde causada pela exposição a tal substância.

Para análise da toxicidade do extrato, foram necessárias quatro amostras da espécie *Lactuca sativa*. Testes de toxicidade utilizando-se plantas constituem recurso prático de baixo custo, de sensibilidade razoável na indicação qualitativa

da presença de substâncias tóxicas ou inibidores biológicos como os pesticidas e herbicidas (PELEGRINI *et al*, 2006). Ademais, necessitou-se de uma solução de hidrocarboneto clorado em água e carbamato em água, nas proporções de 10 v/v%.

Em cada superfície foliar, foram dispersos 20 mL das soluções sob este estado durante 12hs; ao término do processo, para definir a toxicidade das amostras, comparou-se os aspectos odoro-visuais das amostras, os efeitos provocados nas folhas e a degradação dos plastos; As soluções de carbamato e hidrocarboneto clorado constituem comparativos para análise deste procedimento (RACKE, 1992; SANTOS *et al*, 2007).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato produzido a partir das folhas da *Luetzelburgia auriculata* apresentou um rendimento de 3.43% em álcool etílico, valores semelhantes ao rendimento obtido por Vasconcelos (2012), considerado 2.70 % ideal para a extração etanólica das folhas da espécie.

Na Tabela 1, evidenciam-se os componentes fitoquímicos identificados e a atividade antioxidante do extrato etanólico das folhas da *Luetzelburgia auriculata*, satisfatoriamente obtidos ao comparado com os resultados analisados por Vasconcelos (2012).

TESTES REALIZADOS	RESULTADO	FUNDAMENTAÇÃO segundo VASCONCELOS (2012)
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	++	Foi detectada a presença de terpenos, esteroides e compostos fenólicos com potencial atividade antioxidante, embora pouco expressiva frente a controles positivos.
DETERMINAÇÃO DE FENÓIS E TANINOS	+	Apresentam importante atividade praguicida e microbiana
DETERMINAÇÃO DE FLAVONÓIDES	++	Promovem a proteção antigénica
ALCALOIDES	+	Levam à defesa externa
SAPONOSÍDEOS	+++	Promovem atividade antiparasitária, microbiana e citotóxica
TRITERPENÓIDES E ESTEROIDES	+	Causam expansão da membrana plasmática
ANTOCIANINAS	-	-

TABELA 1: Resultados do perfil fitoquímico e da atividade antioxidante do extrato etanólico das folhas da *Luetzelburgia auriculata*

Legendas: Fortemente positivo: (+++), Moderadamente Positivo: (++) , Positivo: (+), Negativo: (-)

Fonte: Autor próprio.

A gradual atividade antioxidante apresentada pelos extratos etanólicos da espécie são decorrentes da presença de compostos fenólicos, taninos e saponinas. De acordo com Azevedo e colaboradores (2014), existe uma forte relação entre a triagem fitoquímica citada e o potencial antioxidante da espécie. Para Oliveira, Espescht e Pelúzio (2006), os flavonoides são espécies de característica ação antioxidante, atribuída a seus radicais fenólicos que atuam como doadores de prótons, inibindo a formação de radicais livres.

3.1 Ensaio biológico

O comportamento das espécies transmissoras de doenças sob ação do extrato (Gráfico 1) demonstrou uma satisfatória apresentação. Os resultados e análises foram todos computadorizados a partir da funcionalidade de dispositivo técnico de vibração NORSONIC para determinação do metabolismo das espécies vetoriais, sendo o *Aedes aegypti* a espécie qual apresentou melhor rendimento*.

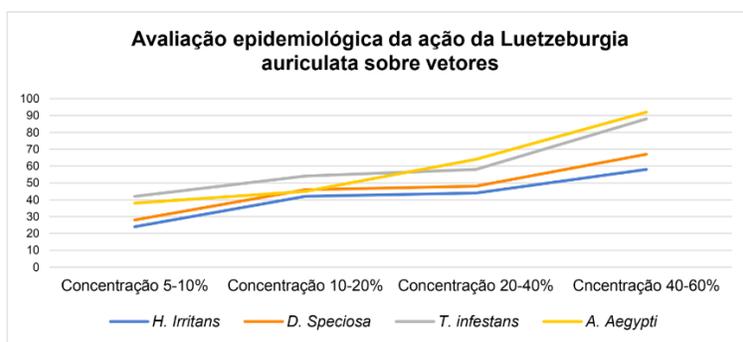


Figura 2: Resultado do ensaio com vetores sob ação dos extratos etanólicos das folhas da *Luetzeburgia auriculata*.

*O tempo de análise está contido no intervalo de 0-8 min de acordo com a literatura

Fonte: Autor próprio.

A presença enriquecida de saponinas na folha da espécie a caracteriza como potencialmente venenosa a determinadas espécies de artrópodes, como demonstrado na figura acima. Em estudo por Leite (2017), os insetos, por não possuírem um sistema digestório completo, assim não produzindo ptialina, não são capazes de quebrar moléculas muito volumosas como saponinas. Assim, o contato com o biocontrolador leva-se ao controle vetorial. Costa e colaboradores (2013) também relacionam a forte atividade antioxidante apresentada por uma espécie vegetal na defesa do organismo contra pragas.

3.2 Perfil histológico

O corte de pecíolo auxiliado a uma diagnose microscópica possibilita a identificação das estruturas da folha e da raiz da espécie. Colorações bioativas foram usadas para uma adequada visualização (figura 2).

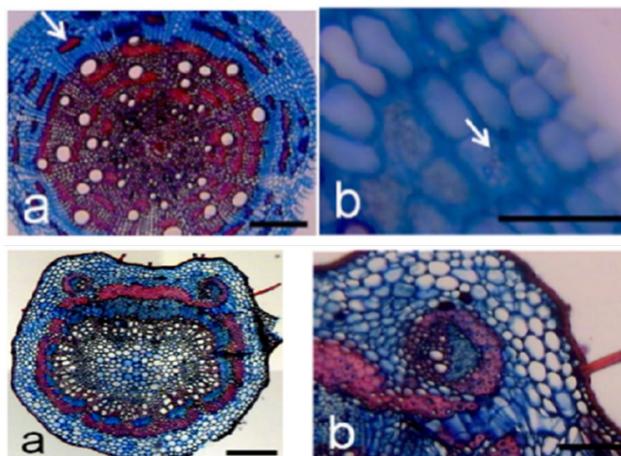


Figura 2: Análise do corte do pecíolo da folha da *Luetzelburgia auriculata*, observado em microscopia. **A** e **B** são cortes transversais.

Fonte: VASCONCELOS (2012)

Foram, então, observados a existência de cutícula espessada e estômatos em depressão, fatores responsáveis pela independência da planta em água. Por este motivo, sobrevivem em períodos de escassez de recursos hídricos, germinando (folhas esverdeadas) durante o ano inteiro e florescendo em cada 2 anos. Assim, são categorizadas como plantas perenifólias (ao invés de xerófitas, espécies habituais do Nordeste brasileiro).

3.3 Análise da citotoxicidade

Ao analisar e comparar as amostras pôde-se observar os danos provocados nas superfícies foliares por cada material. Os efeitos adversos são apresentados pelas de acordo com a tabela 2. Em virtude dos resultados evidenciados pelo experimento.

CONTROLADORES/ ASPECTOS AVALIADOS	CLOROFILA	ODOR	APARÊNCIA	CONSISTÊNCIA	AVALIAÇÃO
Extrato etanólico das folhas	Perda Parcial	Adequado	Coloração Enegrecida	Mediana	Tóxico
Solução de Hidrocarboneto clorado	Perda Parcial	Frágil	Coloração amarelada	Desgastada	Parcialmente tóxico
Solução de Carbamato	Perda de Cloroplastos	Intenso e Mal	Coloração enegrecida	Putrificada	Tóxico

TABELA 2: Análise de toxicidade apresentados pelas soluções em *Lactuca sativa*.

Fonte: Autor próprio

A perda de clorofila é consequência da morte dos cloroplastos no tecido folicular. Nos cloroplastos, localizam-se a enzima ALS ativa, responsável pela pigmentação da folha. Segundo Roman e colaboradores (2005), o uso de praguicidas, bem como controladores de espécies adversas como os extratos etanólicos das folhas da *L. auriculata* são capazes de se ligar à enzima, causando a inibição e redução da quantidade de aminoácidos de cadeia lateral. Além do mais, inibem a divisão celular da planta, causando sua morte.

4 | CONCLUSÃO

Desta forma, é possível concluir a ação metabólica com uma análise de prospecção fitoquímica das folhas da *Luetzelburgia auriculata*, justificando seu caráter praguicida a partir da determinação de fenóis, flavonoides, esteroides e terpenos, que configuram ademais, seu potencial antioxidante. Com as informações obtidas, foi possível a realização de um perfil da espécie, caracterizando-a como perenifólia, ao invés de xerófita, potencialmente tóxica, adaptável a regiões secas ou úmidas, além da determinação de fenóis, flavonóides, cumarinas, saponinas, radicais esteroidais livres e alcaloides como metabólitos secundários e o caráter antioxidante evidenciado no combate a vetores perigosos. Assim, a pesquisa foi bastante funcional para consolidar e ampliar as informações sobre as propriedades da espécie.

REFERÊNCIAS

AZEVEDO, L.F.P.; FARIA, T.S.A.; PESSANHA, F.F.; ARAUJO, M.F.; LEMOS, G.C.S. **Triagem fitoquímica e atividade antioxidante de *Costus spicatus* (Jacq.) S.w.** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. vol.16, n. 2, 2014.

BARREIRO, E. J. & FRAGA, C.A . M. **Química medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos.** Artmed Editora, Porto Alegre, 2001.

BLOISS, S. **A note on free radical formation in biologically occurring quinones.** Biochemistry and Biophysics Acta, v.18, p.165, 1998.

COSTA, A. B.; OLIVEIRA, A. M. C.; OLIVEIRA e SILVA, A. N.; MANCINI-FILHO, J.; LIMA, A. **Atividade antioxidante da polpa, casca e sementes do noni (*Morinda citrifolia* Linn).** Revista Brasileira de Fruticultura, vol. 35, n. 1, 2013.

FONSECA, M.R.F.; MORAIS, RCJ. Francisco Freire Allemão de Cysneiros. **Dicionário Histórico-Biográfico das Ciências da Saúde no Brasil (1832-1930).** Disponível em: <<http://www.dichistoriasaude.coc.fiocruz.br/iah/pt/verbetes/cisfranfrei.htm>>. Acessado em 23 de abril de 2020.

LEITE, G. L. D. **Entomologia Básica.** Revista da Universidade Estadual de Minas Gerais – Instituto de Ciências Agrárias, vol. 6, n. 1, 2017.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** São Paulo, Instituto Plantarum, vol. 1, n. 3, p. 144-116, 2008.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental.** Fortaleza: Edições UFC, vol. 2, n. 1, p. 16-18, 1997

OLIVEIRA, V. P.; ESPESCHIT, A. C. R.; PELÚZIO, M. C. G. **Flavonóides e doenças cardiovasculares: Ação antioxidante.** Revista Médica de Minas Gerais, vol. 16, n.4, 2006.

PELEGRINI, N.N.B.; PATERNIANI, J.E.S.; CARNIATO, J.G.; SILVA, N.B.; PELEGRINI, R.T. **Estudo da sensibilidade de sementes de *Euruca sativa* (rúcula) utilizando substâncias tóxicas para agricultura.** Anais 35, Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola (CONBEA) João Pessoa - PB, 2006;

RACKE, K.D. **Degradation of organophosphorus insecticides in environmental matrices.** In: Chambers, J.E., Levi, P.E. (Eds.), Organophosphates: Chemistry, Fate, and Effects. Academic Press, San Diego, p. 47-73, 1992.

ROMAN, E. S.; VARGAS, L.; RIZZARDI, M. A.; HALL, L.; BECKIE, H.; WOLF, T. M. **Como funcionam os herbicidas: da biologia à aplicação.** Editora Berthier, vol. 21, n. 1, 2005.

ROUQUAYROL, M. Z. **Epidemiologia e Saúde.** Rio de Janeiro: MEDSI, vol. 4, n. 3, p. 12.

SANTOS, V. M. R.; DONNICI, C. L.; DACOSTA J. B. N.; CAIXEIRO, J. M. R. **Organophosphorus pentavalent compounds: history, synthetic methods of preparation and application as insecticides and antitumor agents.** Química Nova, vol. 30, n. 1, p. 10-12, 2007.

SHRINER, R. L.; FUSON, R. C.; CURTIN, D. Y. **Identificacion Sistemática de compuestos orgánicos.** Editorial Limusa, Noriega, vol. 3, n. 3, p. 7, 1977.

VASCONCELOS, A.L.; **Perfil anatômico, fitoquímico, antimicrobiano e citotóxico de *Luetzelburgia auriculata* (Allemao) Ducke.** Dissertação Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE, 2012.

EXPRESSÃO DIFERENCIAL DA SUPERÓXIDO DISMUTASE E CATALASE DURANTE A GERMINAÇÃO DE *Lactuca sativa* L. EXPOSTA A METAIS PESADOS

Data de aceite: 01/09/2020

Data de submissão: 14/07/2020

Antonio Rodrigues da Cunha Neto

Universidade Federal de Lavras
Lavras – Minas Gerais
<https://orcid.org/0000-0001-7107-2755>

Marília Carvalho

Universidade Federal de Alfenas
Alfenas – Minas Gerais
<https://orcid.org/0000-0001-5354-8414>

Kamilla Pacheco Govêa

Universidade Federal de Alfenas
Alfenas – Minas Gerais
<https://orcid.org/0000-0002-3504-0999>

Giselle Márcia de Melo

Universidade Federal de Lavras
Lavras – Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/7418937814671185>

Marília Mendes dos Santos Guaraldo

Universidade Federal de Lavras
Lavras – Minas Gerais
<https://orcid.org/0000-0003-3638-8599>

Heloisa Oliveira dos Santos

Universidade Federal de Lavras
Lavras – Minas Gerais
<https://orcid.org/0000-0003-1384-4969>

Sandro Barbosa

Universidade Federal de Alfenas
Alfenas – Minas Gerais
<https://orcid.org/0000-0001-7321-0007>

RESUMO: Os bioensaios são ferramentas de monitoramento ambiental os quais é possível acompanhar processos fisiológicos importantes através de plantas modelo, bem como, determinar a influência de substâncias tóxicas e seus efeitos adversos nas plantas. Elementos químicos podem ser prejudiciais em concentrações consideradas tóxicas, interferindo na ação enzimática devido a produção de espécies reativas de oxigênio. Sendo assim, se objetivou identificar entre os metais cobre (Cu), chumbo (Pb), níquel (Ni), alumínio (Al) e cádmio (Cd), qual induz maior atividade das enzimas antioxidantes, superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), em sementes de *Lactuca sativa* L. Para o bioensaio, foram distribuídas 50 sementes em placas de Petri sobre dupla camada de papel, contendo 0,1 mL de solução por semente em diferentes concentrações: 50; 100; 250 e 500 μM para cada metal pesado testado (CuSO_4 , PbSO_4 , NiSO_4 , $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, CdSO_4). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 5 tratamentos (0, 50, 100, 250 e 500 μmol) e 4 repetições com 50 sementes e 5 mL de solução por placa de petri. A atividade da SOD observada em plântulas de *L. sativa* que não foram expostas aos metais, quando comparado com as plântulas submetidas aos mesmos em concentrações intermediárias de Cu e Ni, está relacionada a um possível estresse inverso. Quando expostas aos diferentes metais, esses causam maior atividade para a CAT em plântulas de *L. sativa*, provavelmente está relacionada a ausência de modificadores pós-traducionais, sendo esses, responsáveis pela inibição da atividade enzimática.

PALAVRAS-CHAVE: Alface, bioensaio vegetal, sistema antioxidante, chumbo, cádmio.

DIFFERENTIAL EXPRESSION OF SUPEROXIDE DISMUTASE AND CATALASE DURING GERMINATION OF *Lactuca sativa* L. EXPOSED TO HEAVY METALS

ABSTRACT: The Bioassays are tools for environmental monitoring which allow the monitoring of important physiological processes through model plants, as well as determining the influence of toxic substances and their adverse effects on plants. Chemical elements can be harmful in concentrations considered toxic, interfering with the enzymatic action due to the production of reactive oxygen species. Therefore, the objective was to identify copper (Cu), lead (Pb), nickel (Ni), aluminum (Al) and cadmium (Cd), which induces greater activity of antioxidant enzymes, superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT), in seeds of *Lactuca sativa* L. For the bioassay, 50 seeds were distributed in Petri dishes on double layer of paper, containing 0.1 ml of solution per seed in different concentrations: 50; 100; 250 and 500 μ M for each heavy metal tested (CuSO₄, PbSO₄, NiSO₄, Al₂(SO₄)₃, CdSO₄). The experimental design was completely randomized with 5 treatments (0, 50, 100, 250 and 500 μ mol) and 4 repetitions with 50 seeds and 5 mL of solution per petri dish. The activity of SOD observed in seedlings of *L. sativa* that were not exposed to metals, when compared to seedlings submitted to them in intermediate concentrations of Cu and Ni, is related to a possible inverse stress. When exposed to different metals, they cause greater activity for CAT in seedlings of *L. sativa*, it is probably related to the absence of post-translational modifiers, which are responsible for inhibiting enzymatic activity.

KEYWORDS: Lettuce, plant bioassay, antioxidant system, lead, cadmium.

1 | INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos, a utilização de bioensaios vegetais ganhou destaque no meio científico devido a sua eficiência, tanto no monitoramento de poluentes ambientais quanto na constatação da ação de compostos químicos derivados do metabolismo secundário das plantas (SANTOS et al., 2017). Para o monitoramento da germinação de sementes, é possível acompanhar processos fisiológicos importantes, bem como, determinar a influência de uma substância tóxica e os efeitos adversos destas, as quais podem resultar em diferentes tipos de anomalias que poderão interferir na sobrevivência da planta (SANTOS et al., 2017; SILVA et al., 2019).

Dentre as espécies mais utilizadas em bioensaios vegetais, a alface (*Lactuca sativa* L.) se destaca devido à sua sensibilidade a variações abióticas, como por exemplo, variações osmóticas, seu curto período para germinação fisiológica, ou seja, protrusão radicular (24 a 48 horas), e suas sementes são facilmente

encontradas no comércio a um baixo custo (SANTOS et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2020).

Em altas concentrações, elementos químicos presentes no solo, como alumínio (Al), cádmio (Cd), cobre (Cu), chumbo (Pb) e níquel (Ni) podem se tornar tóxicos e prejudiciais, interferindo na ação enzimática durante o processo de desenvolvimento das plantas (FREITAS et al., 2020).

Em relação as propriedades químicas, uma das definições usadas para metais pesados é a elevada massa atômica. O sódio é utilizado como referência e possui massa atômica igual a 23, em razão da solubilidade, sob condições fisiológicas. Muitos metais pesados estão disponíveis para organismos e ecossistemas os quais podem causar efeitos tóxicos (HU et al., 2015).

Alguns desses metais, incluindo Cu e Ni são micronutrientes essenciais para as plantas. Já o cádmio Cd, Pb e Al, além de não serem essenciais e/ou benéficos às plantas, podem ser extremamente tóxicos mesmo em baixas concentrações (HU et al., 2015). Em muitos ambientes naturais e agrícolas, o conteúdo de metais pesados é baixo, não atingindo níveis tóxicos às plantas. No entanto, com o aumento das atividades agrícolas, industriais, mineração, dentre outras; a concentração destes metais pesados e sua consequente acumulação no solo e na água tende a aumentar, o que acarreta sérias implicações aos vários organismos vivos nesses ambientes (FREITAS et al., 2020).

Os metais pesados, além de possuírem ação fitogenotóxica, podem causar a oxidação das membranas, principalmente na sua porção lipídica. As plantas podem, entretanto, desenvolver mecanismos de defesa enzimáticos e não enzimáticos, capazes de neutralizar radicais livres as quais evitam danos às células. Dependendo da biodisponibilidade e concentração, os metais podem apresentar diferentes mecanismos de ação toxicante (RABÊLO et al., 2016). A magnitude dos danos varia de acordo com o metal pesado e a tolerância das espécies vegetais submetidas a este estresse. Isso ocorre porque alguns metais pesados são mais tóxicos para as plantas do que outros, devido a componentes que se ligam aos processos moleculares nos quais elas participam (WEIHONG et al., 2009).

O Cu é essencial para as plantas pois forma complexos estáveis que facilitam a transferência de elétrons e, por esse motivo, está presente em torno de 98% na solução do solo, raízes, seiva do xilema e no meio intracelular na sua forma complexada. Quando em elevadas concentrações, o Cu é capaz de intoxicar os organismos. A forma iônica desse metal é, geralmente, a mais tóxica e causa estresse oxidativo e, como consequência, acarreta mudanças na expressão das enzimas antioxidantes, vindo a aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (FREITAS et al., 2020).

O Pb é um dos maiores poluentes por ser potencialmente tóxico e, se acumular

no solo, causa danos ao desenvolvimento das plantas. Esse metal se destaca entre os demais metais pesados devido à sua ampla utilização e persistência no solo, sendo considerado um dos poluentes mais estudados (HU et al., 2015). Os efeitos do Pb nas plantas afetam diretamente a fisiologia da mesma como clorose; redução na condutância estomática, diminuição do tamanho dos estômatos e também redução da atividade de enzimas (ARAÚJO et al., 2019).

O Ni é um metal-traço utilizado por muitos organismos em suas atividades metabólicas e de organização estrutural, e é um micronutriente essencial, cuja especiação química está sujeita a flutuações no solo. Esse metal é exigido pela urease para hidrolisar a ureia e, em altas concentrações, torna-se tóxico para plantas produzindo danos celulares oxidativos gerando EROs (PÉREZ ÁLVAREZ et al., 2019).

O Al é encontrado nos dejetos industriais e fontes de mineração. É um dos maiores poluentes dos solos e águas, sendo o terceiro elemento mais considerável na camada mais externa da Terra. Os hidróxidos Al são usados para adsorver e flocular contaminantes orgânicos e metalíferos de águas residuais, transportando níveis relevantes de Al residual (AMERI et al., 2020). O Al afeta o balanço redox celular, e altera o funcionamento das mitocôndrias que, como consequência, gera EROs que resultam em um rápido acúmulo de H_2O_2 , principalmente na epiderme radicular e indução da peroxidação na membrana lipídica (AMERI et al., 2020).

O Cd é um dos poluentes que mais afetam a fisiologia dos seres vivos. Está disponível no meio ambiente principalmente a partir de processos antropogênicos e solos agrícolas, além de fontes como pesticidas, resíduos de mineração e fertilizantes químicos. Nas plantas, o Cd afeta a fotossíntese, e danifica o complexo de captação de luz, o que, por consequência, reduz a síntese da clorofila. Embora esse metal não cause reações redox celulares, ou seja, não induz a produção de EROs diretamente, ele pode comprometer a cadeia respiratória, inibir enzimas antioxidantes e deslocar outros íons metaloproteicos causando reações de estresse (GUTIÉRREZ-MARTÍNEZ et al., 2020).

Diante o exposto, se objetivou identificar, entre os metais Cu, Pb, Ni, Al e Cd, qual induz maior atividade das enzimas antioxidantes, SOD e CAT, em sementes de *Lactuca sativa* L.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Biotecnologia Ambiental & Genotoxicidade – BIOGEN, do Instituto de Ciências da Natureza - ICN – UNIFAL-MG. Nos ensaios foram utilizados como organismos teste sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) cv. Grand Rapids.

Para o bioensaio de germinação, foram distribuídas 50 sementes de alface em placas de Petri sobre dupla camada de papel (Whitmann nº2), contendo 0,1 mL de solução por semente em diferentes concentrações: 50; 100; 250 e 500 μM para cada metal pesado testado (CuSO_4 , PbSO_4 , NiSO_4 , $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, CdSO_4).

Água destilada foi empregada como controle negativo. As placas foram mantidas em câmara tipo B.O.D (Cienlab®) a $20^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas. O potencial osmótico das soluções foi determinado utilizando o osmômetro automático (Advanced Instruments - 3320 Micro - Osmometer).

Após 7 dias, para a extração das enzimas antioxidantes, 200 mg de tecido das plântulas foram macerados na presença de nitrogênio líquido e homogeneizados em 1,5 mL do tampão de extração. Os homogeneizados foram centrifugados a 12.000 g, por 30 minutos, a 4°C , coletando-se os sobrenadantes para as análises enzimáticas da superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) segundo Biemelt; Keetman; Albrecht (1998).

A atividade da SOD foi determinada pela capacidade de a enzima inibir a redução fotoquímica do nitro blue tetrazolium (NBT). Os tubos contendo o tampão juntamente com a amostra, e o controle (meio de incubação sem a amostra), foram iluminados com lâmpada fluorescente de 20 W por 7 minutos e as leituras realizadas a 560 nm. Uma unidade de SOD foi definida pela quantidade de enzima que inibe 50% da taxa de redução do NBT. A leitura foi feita a 560 nm em espectrofotômetro.

A atividade da CAT foi determinada pelo decréscimo na absorbância a 240 nm, a cada 15 segundos, por 3 minutos, monitorado pelo consumo de peróxido de hidrogênio. A reação foi iniciada pela adição do H_2O_2 ($\epsilon = 36 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Uma unidade de CAT é definida pela quantidade de enzima necessária para decompor 1 μmolmin^{-1} de H_2O_2 .

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 5 tratamentos (0, 50, 100, 250 e 500 μmol) e 4 repetições com 50 sementes e 5 mL de solução por placa de petri. Os resultados foram submetidos à análise de variância - ANAVA ($p < 0,05$).

3 | RESULTADOS

Ao analisar a atividade da enzima superóxido desmutase (SOD) foi possível observar que, independente do metal pesado analisado, a concentração de 500 μmol apresentou maior resultado em relação ao controle (Figura 1). Nesta concentração, o Cd e o Ni resultaram em uma maior atividade da enzima, sendo estes superiores ao Cu, Pb e Al, respectivamente.

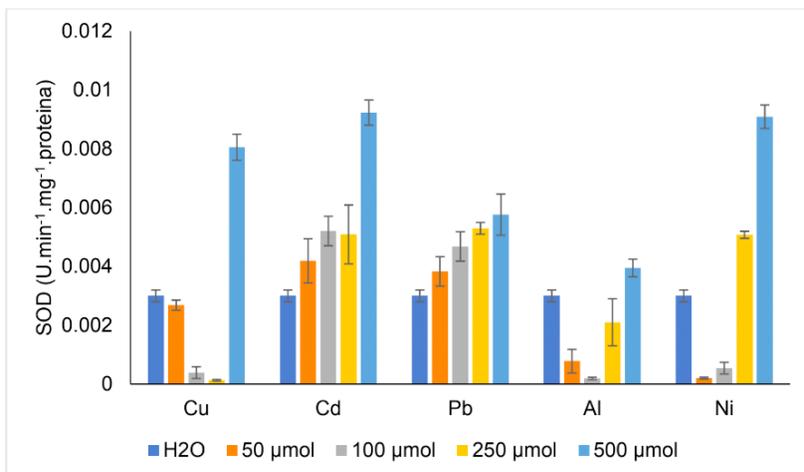


Figura 1 - Atividade enzimática da Superóxido dismutase, em plântulas de *L. sativa*, submetidas a diferentes metais pesados (Cu; Cd; Pb; Al e Ni) em 4 níveis de concentração (50; 100; 250 e 500 μmol). Água destilada foi utilizada como controle negativo. Barras representam os valores de erro padrão.

O Cu (Figura 1), quando comparado ao controle, diminuiu a atividade da SOD nas concentrações de 50, 100 e 250 μmol . Nesta última concentração, a atividade enzimática aproximou-se de 0 U mg proteína⁻¹, sendo o menor valor atingido quando utilizados 250 μmol de solução, independente do metal utilizado.

Ainda na Figura 1, é possível observar que as três menores concentrações da solução de Cd (50, 100 e 250 μmol) refletiram em maiores valores de atividade da SOD, quando comparados ao controle. A atividade enzimática, quando usadas soluções de Cd, na concentração de 100 μmol apresentou valor maior do que 250 e 50 μmol , sendo este último o menor deles.

Soluções feitas com Pb resultaram em valores gradativos ascendentes da atividade da SOD, quando comparados ao controle, sendo que, quanto maior a concentração, maior a atividade da enzima (Figura 1).

Ainda em relação ao controle, as três menores concentrações das soluções de Al resultaram em menores valores de atividade enzimática da SOD (Figura 1). A atividade da SOD, quando a concentração de Al foi de 250 μmol , foi maior do que quando a concentração foi de 50 μmol , que por sua vez, foi maior do que a concentração de 100 μmol . Quando comparados os metais na concentração de 100 μmol , a solução de Al foi a que apresentou menor valor de atividade enzimática.

A atividade enzimática da SOD foi superior quando o Ni foi usado na concentração de 250 μmol se comparada com o controle e às duas menores concentrações (Figura 1). A solução de 100 μmol desse metal resultou em uma

atividade enzimática superior do que quando utilizada a solução de 50 μmol , sendo ambas inferiores ao controle.

De acordo com a Figura 2, foi possível observar que todas as soluções, independente dos metais e das concentrações utilizadas, provocaram uma maior atividade da enzima catalase (CAT) quando comparadas ao controle.

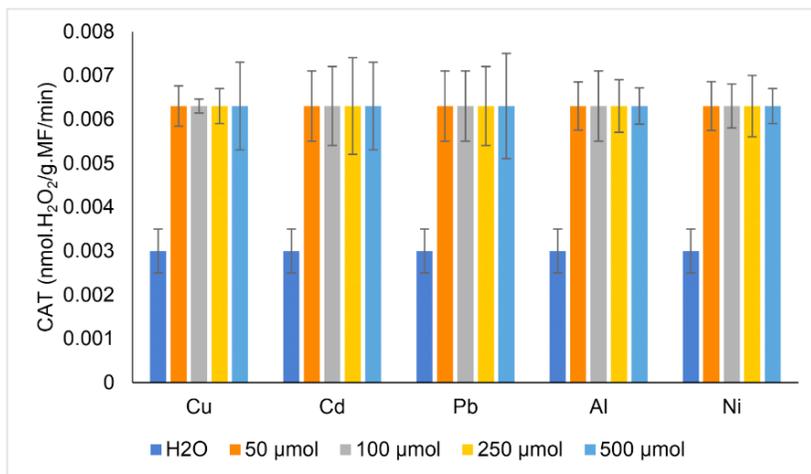


Figura 2- Atividade enzimática da Catalase, em plântulas de *L. sativa*, submetidas a diferentes metais pesados (Cu; Cd; Pb; Al e Ni) em 4 níveis de concentração (50; 100; 250 e 500 μmol). Água destilada foi utilizada como controle negativo. Barras representam os valores de erro padrão

O Cu nas concentrações de 50, 100 e 250 μmol , o Pb na concentração de 50 μmol e o Ni na concentração de 250 μmol ocasionaram menor atividade da enzima CAT, quando comparados aos demais metais nas demais concentrações, sendo esse valor igual a 0,0063027 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ mg proteína⁻¹ (Figura 2).

A atividade enzimática da CAT foi igual a 0,0063028 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ mg proteína⁻¹ quando a solução de Al foi feita nas concentrações de 100 e 250 μmol e a solução de Ni na concentração de 500 μmol .

Quando as concentrações das soluções foram de 250 e 500 μmol de Cd, 100 e 250 μmol de Pb e 100 μmol de Ni, a enzima CAT teve sua atividade igual a 0,0063029 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ mg proteína⁻¹.

O Cu na concentração de 500 μmol e o Cd na concentração de 50 μmol resultaram em uma atividade enzimática de 0.0063030 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ mg proteína⁻¹, enquanto o Cd na concentração de 100 μmol e o Al na concentração de 500 μmol apresentaram atividade enzimática igual a 0,0063031 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ mg proteína⁻¹.

A enzima CAT apresentou maiores valores de atividade quando usadas

concentrações de 50 μmol de Al, 500 μmol de Pb e 50 μmol de Ni, sendo eles 0,0063032 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ mg proteína⁻¹, 0,0063033 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ mg proteína⁻¹ e 0,0063034 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ mg proteína⁻¹, respectivamente.

4 | DISCUSSÃO

As plantas produzem espécies reativas de oxigênio (EROs) em uma concentração ideal devido à sua natureza fotorespiratória havendo equilíbrio entre a produção de EROs e as enzimas antioxidantes (RABÊLO et al., 2016). Vários estudos mostraram que, em condições de estresse abiótico, as plantas desencadeiam de forma irregular a produção e o acúmulo de EROs prejudicando a fisiologia da planta (LARRÉ et al., 2016). Para evitar o acúmulo de EROs, as plantas possuem sistemas de defesa enzimáticos que permitem a eliminação desses compostos e, assim, protegem contra o estresse oxidativo (ROCHA et al., 2018).

O estresse oxidativo gerado pelos metais pesados ativa o sistema antioxidante, o qual, a atividade da SOD está relacionada à produção do superóxido (O_2^-) (ROCHA et al., 2018). E a presença de atividade da CAT em *Lactuca sativa* quando submetida aos diferentes metais indica a formação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2).

De forma geral, a atividade enzimática do sistema antioxidante aumenta como uma tentativa de combater as EROs, mas quando o conteúdo do metal pesado no tecido da planta ou a geração de EROs é muito alto, a atividade enzimática pode ser reduzida (HU et al., 2015). A menor atividade enzimática observada na SOD de *Lactuca sativa* pode ser explicada devido a oxidação dos grupos tiol das enzimas devido ao aumento de H_2O_2 .

A alteração do sistema antioxidante também está associada à captação de micronutrientes catiônicos, uma vez que as isoformas da SOD também são ativadas pelos cofatores enzimáticos. Assim como a SOD, também existem isoformas da CAT (RABÊLO et al., 2016). O aumento gradativo da SOD em *Lactuca sativa*, por exemplo, submetida as diferentes doses de Pb pode estar relacionado a transcrição de genes que codificam estas isoformas. Tais, isoformas têm uma distribuição heterogênea entre as espécies porque apresentam função específica dependendo do tecido localizado (PÉREZ ÁLVAREZ et al., 2019).

Especificamente sobre o metal Cu, esse é um dos componentes classificado como metaloenzima e está envolvido em estratégias de redução da oxidação, na desintoxicação de O_2^- e na síntese de proteínas e ligninas, ou seja, em processos essenciais para plantas expostas a metais pesados (RABÊLO et al., 2016). Esse fato pode ser observado nos resultados obtidos da SOD em *Lactuca sativa* submetidas a 500 μmol de Cu.

Como já dito anteriormente, a SOD é responsável diretamente pelo controle

de teor de O_2 e H_2O_2 , portanto, a redução do SOD pode ser resultado do aumento da atividade de outras enzimas como a CAT. Portanto, a atividade de SOD geralmente aumenta, não só devido ao estresse oxidativo, mas também pela ineficácia da CAT em eliminar H_2O_2 (OGUNKUNLE et al., 2018).

Às diferentes atividades de SOD causada pelos metais indica que o sistema de defesa das plantas é afetado por essas concentrações, sendo a SOD a primeira linha de defesa atuando na via de eliminação de superóxidos e H_2O_2 (PÉREZ ÁLVAREZ et al., 2019).

O alto nível de atividade da SOD observado no controle em relação as concentrações intermediárias de Cu e Ni pode ser indicativo de estresse inverso, devido à ausência destes micronutrientes. Isso acontece porque o Cu e o Ni são elementos essenciais em vários processos metabólicos, como ureólise, metabolismo do hidrogênio e outros (PÉREZ ÁLVAREZ et al., 2019).

A maior atividade de CAT causada pelos diferentes metais, deve-se provavelmente pela ausência de modificadores pós-traducionais, que são responsáveis em evitar a reposição da atividade enzimática, ocorrendo concomitante com a expressão proteica. Nesse sentido, as enzimas podem ser expressas durante o estresse assim como ocorreu para CAT em *Lactuca sativa*. A atividade da CAT pode alterada quando ocorre deslocamento de cofatores metálicos ou dobra inadequada de proteínas (AMERI et al., 2020).

5 | CONCLUSÃO

Em plântulas de alface, submetidas aos diferentes metais pesados em níveis variáveis de concentração conclui-se que o alto nível de atividade da SOD observado em plântulas que não foram expostas aos metais, quando comparado com as plântulas submetidas aos mesmos em concentrações intermediárias de Cu e Ni, está relacionada a um possível estresse inverso, devido à ausência destes micronutrientes.

Quando da atividade da enzima CAT, a maior atividade observada em plântulas de alface quando expostas aos diferentes metais, provavelmente está relacionada a ausência de modificadores pós-traducionais, que são responsáveis em evitar a reposição da atividade enzimática, ocorrendo concomitante com a expressão proteica.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa PET-SESU-MEC ao Professor Sandro Barbosa, CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico

e Tecnológico) e FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado) de Minas Gerais) pelos financiamentos e bolsas de pesquisa concedidos para a realização deste estudo.

REFERÊNCIAS

- AMERI, M.; BARON-SOLA, A.; KHAVARI-NEJAD, R. A.; SOLTANI, N.; NAJAFI, F.; BAGHERI, A.; MARTINEZ, F.; HERNÁNDEZ, L. E. Aluminium triggers oxidative stress and antioxidant response in the microalgae *Scenedesmus* sp. **Journal of Plant Physiology**, v. 246, 2020.
- ARAÚJO, C. P.; AMORIM, E. V.; SOUZA, V. L.; BERTOLDE, F. Z.; DOS SANTOS, I. C.; MANGABEIRA, P. A. O. Toxicidade de chumbo e alagamento do solo: mecanismos de sobrevivência utilizados pelas plantas. **Revista PINDORAMA**, v. 9, n. 9, p. 21-21, 2019.
- BIEMELT, S.; KEETMAN, U.; ALBRECHT, G. Re-aeration following or anoxia leads to activation on the antioxidative defense system in roots of wheat seedlings. **Plant Physiology**, v.116, n.2, p.651-658, 1998.
- FREITAS, D. A.; DE PAULA SOUSA, I.; COUTINHO, M. N.; ALVARENGA, A. C. Efeito dos metais pesados cobre e cromo no solo: germinação e desenvolvimento inicial de *Myracroduon urundeuva*/Effect of heavy metals copper and chromium on soil: germination and initial development of *Myracroduon urundeuva*. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 3, n. 1, p. 162-171, 2020.
- GUTIÉRREZ-MARTÍNEZ, P. B.; TORRES-MORÁN, M. I.; ROMERO-PUERTAS, M. C.; CASAS-SOLÍS, J.; ZARAZÚA-VILLASEÑOR, P.; SANDOVAL-PINTO, E.; RAMÍREZ-HERNÁNDEZ, B. C. Assessment of antioxidant enzymes in leaves and roots of *Phaseolus vulgaris* plants under cadmium stress//Evaluación de enzimas antioxidantes en hojas y raíces de plantas *Phaseolus vulgaris* bajo estrés de cadmio. **Biotecnia**, v. 22, n. 2, v. 110-118, 2020.
- HU, Z.; XIE, Y.; JIN, G.; FU, J.; LI, H. Growth responses of two tall fescue cultivars to Pb stress and their metal accumulation characteristics. **Ecotoxicology**, v. 24, n. 3, p. 563-572, 2015.
- LARRÉ, C.F.; MORAES, C.L.; BORRELLA, J.; AMARANTE, L.; DEUNER, S.; PETERS, J.A. Antioxidant activity and fermentative metabolism in the plant *Erythrina crista-galli* L. under flood conditions. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 2, p. 567-580, 2016.
- OGUNKUNLE, C. O.; JIMOH, M. A.; ASOGWA, N. T.; VISWANATHAN, K.; VISHWAKARMA, V.; FATOBA, P. O. Effects of manufactured nano-copper on copper uptake, bioaccumulation and enzyme activities in cowpea grown on soil substrate. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 155, p. 86-93, 2018.
- OLIVEIRA, Y. R.; DA SILVA, P. H.; DE ABREU, M. C.; LEAL, C. B.; DE OLIVEIRA, L. P. Potencial Alelopático de Espécies da Família Fabaceae Lindl. **Ensaios e Ciência**, v. 24, n. 1, p. 65-74, 2020.
- PÉREZ ÁLVAREZ, S.; CABEZAS-MONTERO, D.; DEBORA-DUARTE, B. N.; MAGALLANES TAPIA, M. A.; SIDA-ARREOLA, J. P.; SÁNCHEZ, E.; HÉCTOR-ARDISANA, E. F. Respuesta inducida a enzimas antioxidativas en arroz bajo estrés por plomo y níquel. **Revista mexicana de ciencias agrícolas**, v. 10, n. 1, p. 51-62, 2019.

RABÊLO, F. H. S.; BORGIO, L. Changes caused by heavy metals in micronutrient content and antioxidant system of forage grasses used for phytoremediation: an overview. **Ciência Rural**, v. 46, n. 8, p. 1368-1375, 2016.

ROCHA, G. A.; ROMANATTI, P. V.; OLIVEIRA, F. M.; CUNHA NETO, A. R.; PEREIRA, F. J.; POLO, M. Ecophysiology of the tree species *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae) submitted to flooding. **Cerne**, v. 24, n. 4, p. 323-333, 2018.

SANTOS, S. C.; DE OLIVEIRA, U. A.; DE TRINDADE, L. O. R.; ASSIS, M. D. O.; CAMPOS, J. M. S.; SALGADO, E. G.; BARBOSA, S. Genotypes selection for plant bioassays using *Lactuca sativa* L. and *Allium cepa* L. L. **Pakistan Journal of Botany**, v. 49, p. 2201-2212, 2017.

SILVA, L. L. A.; NETO, A. C. A.; BARBOSA, U. D. N. Avaliação do potencial alelopático do extrato aquoso de *passiflora alata* curtis na germinação de *lactuca sativa* L/Evaluation of allelopathic potential of *passiflora alata* curtis water extract in germination of *lactuca sativa* L. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 11, p. 26361-26366, 2019.

WEIHONG, X. U.; WENYI, L. I.; JIANPING, H. E.; SINGH, B.; XIONG, Z. Effects of insoluble Zn, Cd, and EDTA on the growth, activities of antioxidant enzymes and uptake of Zn and Cd in *Vetiveria zizanioides*. **Journal of Environmental Sciences**, v. 21, n. 2, p. 186-192, 2009.

INCORPORAÇÃO DA ETAPA DE PRÉ-HIDRÓLISE ÁCIDA NO PROCESSO DE OBTENÇÃO DE NANOLÍNTER

Data de aceite: 01/09/2020

Data de submissão: 03/06/2020

Danielle Goveia

Universidade Estadual Paulista, UNESP,
Campus de Itapeva
Itapeva-SP
<https://orcid.org/0000-0001-6170-5459>
Universidade Estadual Paulista, UNESP
Araraquara-SP

Vinicius de Jesus Carvalho de Souza

Universidade Estadual Paulista, UNESP,
Campus de Itapeva
Itapeva-SP
<https://orcid.org/0000-0001-5462-6453>

Estefânia Vangelie Ramos Campos

Universidade Federal do ABC, UFABC,
Campus de Santo André
Santo André-SP
<https://orcid.org/0000-0003-3443-3333>

Jose Claudio Caraschi

Universidade Estadual Paulista, UNESP,
Campus de Itapeva
Itapeva-SP
<https://orcid.org/0000-0003-1061-5378>

RESUMO: O línter de algodão é um resíduo gerado no processamento do algodão. É um material com elevado teor de alfa-celulose, possuindo potencial para ser convertido em produtos de alto valor comercial como a nanocelulose. Os materiais em escala nano apresentam vantagens quanto ao material que o

originou em escala normal, porém, na literatura ainda é escasso o estudo do impacto que estes nanomateriais vão gerar após ao fim do seu ciclo de vida, bem como no desenvolvimento de procedimentos seguros de obtenção. Com o crescimento da nanotecnologia e da vasta área de aplicação dos nanomateriais, é necessário o desenvolvimento de processos de obtenção eficientes e que minimizem o impacto ambiental, aliada ao uso de matéria prima de fontes renováveis. Desta forma, buscou-se desenvolver um procedimento para a obtenção da nanocelulose com o uso do línter de algodão, um resíduo de baixo valor agregado, como matéria-prima. No procedimento de obtenção foi adicionado a etapa de pré-hidrólise ácida em alta pressão, com objetivo de purificar o línter, reduzir o tamanho das cadeias de celulose e minimizar o consumo de reagentes na etapa seguinte de hidrólise ácida. Foi realizado na sequencia o processo de branqueamento para eliminação de lignina e de outras impurezas que dão coloração a polpa de celulose. Para alcançar a nanoescala prosseguiu com a hidrólise ácida, seguida de centrifugação e diálise para neutralização do pH. No final do processo foi feita a sonificação da suspensão para a dispersão das nanopartículas. Assim, o nanolínter de algodão foi caracterizado por espalhamento dinâmico de luz e potencial zeta e os resultados evidenciaram a obtenção de nanolínter com partículas homogêneas e com elevada estabilidade.

PALAVRAS-CHAVE: Nanocelulose, impacto ambiental, pré-hidrólise, algodão.

INCORPORATION OF ACID PRE-HYDROLYSIS STAGE IN THE OBTAINING PROCESS OF NANOLINTER

ABSTRACT: Cotton lint is a residue generated in the processing of cotton. It is a material with a high alpha-cellulose content having the potential to transform in products of high commercial value such as nanocellulose. Nano-scale materials have advantages over the material that originated them on a normal scale however in the literature there are few studies of the impact that these nanomaterials that will generate after the end of their life cycle, as well as in the development of safe manufacturing procedure. With the growth of nanotechnology and the wide area of application of nanomaterials, it is necessary to develop efficient procurement processes that minimize environmental impact combined with the use of base materials from renewable sources. In this way, we sought to develop a procedure for obtaining the nanocelulose with the use of cotton lint, a residue with low value, as a base material. In the procedure for obtaining the acid prehydrolysis step at high pressure, in order to purify the linter, reduce the size of the cellulose chains and minimize the consumption of reagents in the next acid hydrolysis step. Next, the bleaching process was done to eliminate lignin and other impurities that give color to the cellulose pulp. To achieve the nanoscale continued the proceeded with acid hydrolysis followed by centrifugation and dialysis to neutralize the pH. At the end of the process, the suspension was sonified to disperse the nanoparticles. Thus, the cotton nanolinter was characterized by dynamic scattering of light and zeta potential and the results showed the obtaining of nanolinter with homogeneous particles and with high stability.

KEYWORDS: Nanocellulose, environmental impact, prehydrolysis, cotton.

1 | INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas estão sendo desenvolvidas muitas pesquisas com o objetivo de encontrar novos materiais provenientes de fontes renováveis. A celulose é considerada a macromolécula mais abundante da natureza e vem se destacando como matéria-prima para a produção desses novos materiais. Atualmente os produtos à base de celulose são amplamente utilizados em diversas aplicações como na fabricação do papel, adesivos, tecidos, alimentos, cosméticos e na indústria farmacêutica. Com tudo, aplicações de alta tecnologia em nanoescala estão sendo estudadas, principalmente na produção de nanocompósitos de alta tecnologia (KALLEL et al., 2016).

As nanofibras de celulose (nanocelulose) mostram grande potencial tecnológico por serem sustentáveis, possuírem grande área superficial além de alta cristalinidade, ou seja; são fibras constituídas por moléculas altamente ordenadas que oferecem elevada resistência e baixa massa específica. Outras vantagens da nanocelulose são a sua natureza não abrasiva, caráter não tóxico, biocompatibilidade e biodegradabilidade (NETO, 2013).

As fontes de nanocelulose são todos os materiais lignocelulósicos que nascem

naturalmente ou são cultivados com algum interesse comercial em atividades agrícolas. Há também os resíduos gerados pela agroindústria que não possuem interesse comercial, porém, são fontes renováveis de elevado potencial celulósico, permitindo que novas pesquisas sejam realizadas com objetivo não só de agregar valor econômico a esses resíduos, como também, encontrar fontes sustentáveis que tragam melhorias em caráter ambiental e tecnológico (CÉSAR, 2013).

Dentre esses resíduos agrícolas podemos citar o línter do algodão, um subproduto obtido no processo mecânico de separação do algodão da semente. As fibras do línter não possuem qualidade para serem usadas na indústria têxtil, porém possuem potencial para obtenção de cristais de celulose, agregando ainda mais valor a cadeia produtiva do algodão (MORAIS et al., 2012).

Após a colheita e separação do algodão, ficam retidos as fibras curtas de línter. Essas fibras devem ser removidas para o beneficiamento das sementes para a produção de óleo, torta ou para plantio. As fibras de línter tem ótima reatividade devido a sua arquitetura oca, quebradiça e porosa, que facilita o acesso de reagentes químicos a celulose, permitindo a obtenção de uma polpa mais pura e também facilitando o processo de hidrólise ácida visando diminuição das fibras em escalas nanométricas (MORAIS et al., 2012). Devido a essas características citadas o línter possui um elevado potencial como matéria-prima para obtenção de nanocelulose, que além de agregar valor à cadeia produtiva do algodão também possui caráter sustentável, reduzindo o impacto ambiental gerado pelo acúmulo de resíduos.

Considerando que o processo químico de obtenção de nanocelulose gera uma quantidade considerável de resíduo ácido, foi adicionado ao processo uma pré-etapa, usando ácido diluído, temperatura elevada e alta pressão. Esta etapa, denominada pré-hidrólise, tem o objetivo de solubilizar as regiões amorfas da celulose (hemiceluloses), purificar a polpa (removendo impurezas solúveis), e reduzir o tamanho das fibras para aumentar a área de contato da polpa de celulose. Posteriormente realizou-se um processo de branqueamento para a remoção de lignina e outras impurezas, seguindo para a hidrólise ácida com ácido sulfúrico em alta concentração para a obtenção do nanolinter. A pré-hidrólise potencializa o processo de obtenção dos nanocristais ao mesmo tempo que permite a redução de ácido sulfúrico na etapa de hidrólise, caracterizando-se por um procedimento com geração reduzida de resíduos e ambientalmente benéfica.

2 I MATÉRIA-PRIMA DE FONTE RENOVÁVEL: LÍNTER DO ALGODÃO

O nome línter é dado ao agregado de fibras curtas que ficam aderidas as sementes após a retirada da pluma do algodão. A separação dos filamentos das sementes é realizada pelo processo de descarçamento, onde o material de melhor

qualidade é retirado no primeiro corte, enquanto que uma segunda ou terceira operação gera fibras de menor qualidade e comprimento, conhecidas por línter de segundo ou terceiro corte. O línter é constituído praticamente por celulose com pequenas quantidades de pectinas, constituintes minerais, lipídeos e resinas (MORGADO, 2009).

Quando o objetivo é o beneficiamento das sementes de algodão, o línter torna-se um grande inconveniente e deve ser removido. As camadas do línter presentes nas sementes aderem-se umas às outras, dificultando a fluidez do volume processado, e causando também maiores dificuldades no armazenamento por servirem de abrigo à pragas e agentes patogênicos. Outros problemas relacionados ao plantio das sementes incluem ainda: a maior dificuldade de semeadura (atrapalham a distribuição uniforme das sementes), além de retardar o processo de germinação devido a redução da capacidade de absorção de água pelas sementes do algodão (MOTA, 2009).

3 I NANOCELULOSE: OBTENÇÃO, PROPRIEDADES E APLICAÇÕES

A celulose é uma macromolécula de origem vegetal de grande abundância. Estima-se que em média 40% de todo o carbono existente na composição de uma planta encontra-se na estrutura da celulose (FENGEL; WEGENER, 1989). Toda o reino vegetal é constituído por biocompósitos de origem natural, compostos de celulose semicristalina, matriz amorfa feita de hemicelulose, lignina, ceras, extrativos e elementos inorgânicos (cinzas). Esses elementos conseguem formar uma grande variedade de plantas com diversas escalas. A purificação desse material é feita a partir de tratamento químicos como hidrólises ácidas, extração alcalina e branqueamento. Enquanto as nanopartículas de celulose (nanocelulose) são obtidas pela desconstrução das macromoléculas de celulose utilizando processos mecânicos, químicos ou biológicos, até que se formem partículas em escala nanométrica (DUFRESNE, 2013).

Segundo a definição de Favero (2015) as nanoceluloses são pequenas partículas de celulose que possuem pelo menos uma de suas dimensões igual ou inferior a 100nm, possuem a forma de agulhas e são altamente cristalinas, ou seja, apresentam estruturas homogêneas com poucas imperfeições.

Na literatura encontram-se três tipos distintos de nanocelulose que são diferenciadas pela forma de obtenção que resultam em diferentes graus de cristalinidade, superfície química, e propriedades mecânicas. Os tipos de nanocelulose são divididas em (ABITBOL et al., 2016):

(I) Nanocristais de celulose (Cellulose nanocrystals - CNCs), também chamado celulose nanocristalina (Nanocrystalline cellulose - NCC) ou nanowhiskers

de celulose (Cellulose nanowhiskers - CNWs) - Obtida principalmente através de hidrólise ácida, com o ácido sulfúrico sendo o ácido mais utilizado;

(II) Nanofibras de celulose (Cellulose nanofibrils - CNFs), também chamada de celulose nanofibrilada (nano-fibrillated cellulose - NFC) – É extraída por processo mecânicos, tratamentos químicos ou pela combinação desses dois processos;

(III) Celulose bacteriana (Bacterial celulose - BC) – É obtida pela ação de microorganismos, com o *Gluconacetobacter xylinum* sendo o mais eficiente entre os microorganismos produtores de nanocelulose

O grande desafio na obtenção das nanopartículas de celulose está em conseguir partículas homogêneas e que sejam estáveis, já que a nanocelulose possui tendência de se auto agregar devido a interação de superfícies contendo hidroxila. (DUFRESNE, 2013)

Um dos focos das pesquisas referentes a nanocelulose está em sua síntese como produto intermediário para a aplicação em nanocompósitos. Esse interesse deve-se a algumas propriedades que esse material possui como a dimensão em nanoescala, grande área de superfície, alta cristalinidade, propriedades óticas diferenciadas, e além disso, a nanocelulose possui alta rigidez com cerca de 220 GPa no módulo de elasticidade (superior ao módulo de elasticidade das fibras de Kevlar), elevada resistência a tração conseguindo suportar cerca de 10 GPa (superior a alguns tipos de aço) aliada a baixa densidade (cerca de 1,6 g/cm³) (LEE et al., 2014 e PHANTHONG et al., 2018).

A nanocelulose é um material muito atrativo para diversas áreas de pesquisa como, por exemplo, por possuir o comportamento de líquidos cristalinos é utilizada em aplicações fotônicas, além disso, sua organização quiral, propriedades óticas, barreira de gás e capacidade de sorção de água, torna esse material muito utilizado na fabricação de filmes e espumas. Suas propriedades elétricas também mostram potencial no campo da eletrônica, os filmes ultrafinos de nanocelulose exibem respostas piezoelétricas, ou seja, é a propriedade que alguns materiais apresentam de se polarizarem ao serem pressionados mecanicamente, e assim podem ser utilizados na fabricação de dispositivos eletrônicos flexíveis.

Outra característica muito atrativa da nanocelulose nanocristalina é a sua funcionalização, devido aos seus grupos de hidroxila e grande área de superfície que permitem modificações nos nanocristais de celulose, ampliando ainda mais o campo de aplicação desse nanomaterial.

4 I AVALIAÇÃO DA INCORPORAÇÃO DA ETAPA DE PRÉ-HIDRÓLISE ÁCIDA

O líter passou por um pré-tratamento de hidrólise ácida com ácido clorídrico.

Sob elevada temperatura e pressão, em autoclave (PHOENIX modelo AV-30) em frasco de vidro duran com rosca e tampa azul. A temperatura e pressão do processo foi de 123 °C e 2,3 kg.cm⁻², respectivamente. O tempo de aquecimento foi de 60 minutos e o tempo de cozimento sob as condições estabelecidas foi de 30 minutos. Esse pré-tratamento foi realizado na proporção de 1:20 (línter:HCl) com HCl na concentração de 0,3 mol.L⁻¹.

Após o processo de hidrólise as amostras foram filtradas, separando o material sólido (línter pré-hidrolisado) do licor. O processo de filtragem foi feito até neutralização do pH.

Para avaliar o efeito da pré-hidrólise ácida na estrutura da polpa de línter, foi realizada a caracterização antes e após o processo, conforme os procedimentos da Tabela 1.

Parâmetro	Procedimentos
Holocelulose	Método clorito de sódio
Alfa-celulose	TAPPI T 203 om-99
Hemiceluloses	(Holocelulose - Alfa-celulose)
Teor de cinzas	TAPPI T 211 om-02

Tabela 1 – Procedimentos utilizados na análise da polpa de línter antes (*in natura*) e após a etapa de pré-hidrólise.

A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos da caracterização da polpa de línter antes e após o processo de pré-hidrólise.

Polpa de Línter	Holocelulose (%) ± σ*	Alfa-celulose (%) ± σ	Hemicelulose (%)	Cinzas (%) ± σ
<i>in natura</i>	95,79 ± 0,54	88,96 ± 0,31	6,83	1,58 ± 0,04
Pré-hidrolisada	95,47 ± 0,14	91,54 ± 0,15	3,93	0,23 ± 0,01

Tabela 2 - Caracterização da polpa de línter.

*σ – desvio padrão

É possível observar que o tratamento foi efetivo para o aumento do teor de alfa-celulose (estrutura ordenada da celulose) e também para a redução das hemicelulose (estrutura desordenada da celulose), além disso houve uma diminuição do teor de cinzas, indicando que a pré-hidrólise ácida foi efetiva para a redução de impurezas inorgânicas. O pré-tratamento também resultou em um material mais homogêneo, onde as fibras desordenadas do línter formaram partículas pequenas

com maior área superficial e melhor reatividade, facilitando o processo de hidrólise ácida para a obtenção das nanopartículas.

Os materiais pré-hidrolizados passaram por um processo de branqueamento nas condições estabelecidas pelo procedimento de determinação da holocelulose utilizando o método de clorito de sódio tamponado. No procedimento, para cada 4,000 g de amostra foi utilizado 140 mL de água destilada, 3 mL de ácido acético glacial, 3,3 g de clorito de sódio e 4,3 g de acetado de sódio. O meio reacional foi colocado em um banho termostático a 70 °C. Decorrido os 30 minutos após a primeira adição, foi feita uma segunda adição de reagentes (com exceção da água), mantendo-se a reação por mais 60 minutos. Ao final, amostras foram filtradas, lavadas com água destilada até pH neutro e a remoção total do dióxido de cloro (de coloração amarela) e em seguida foram colocadas na estufa a 105±3 °C para a secagem. A Figura 1 apresenta o línter em todas etapas do processo, após a lavagem com água deionizada, após a pré-hidrólise e após o branqueamento, transformando-se em um pó branco.



Figura 1 - Amostra de línter de algodão secas em estufa em diferentes etapas do processo. Da esquerda para a direita, lavado, pré-hidrolizado e branqueado.

Fonte: Adaptado de Souza (2019)

5 | METODOLOGIA DE OBTENÇÃO DE NANOLINTER POR HIDRÓLISE ÁCIDA

Para a obtenção do nanolinter foi realizado uma hidrólise ácida com cada uma das polpas branqueadas obtidas no processo anterior. Utilizou-se ácido sulfúrico 64% m/m na proporção de 1:10 (polpa (g):ácido (ml)), a temperatura foi de 60°C (temperatura mantida por uma chapa aquecedora); o tempo de hidrólise foi de 30 minutos. Ao final do processo foi adicionado 100 g de gelo e amostra ficou decantando por 24 h.

Após a decantação o sobrenadante foi descartado, enquanto que o restante

seguiu para o processo de centrifugação. A centrifugação foi realizada em 4 ciclos de 5 minutos, sendo que ao final de cada ciclo o sobrenadante foi descartado para adição de água.

O processo de diálise foi feito com uma membrana da SERVAPOR de 21mm de diâmetro. Antes da utilização foi necessária uma preparação, pois a membrana contém substâncias com traços de metais ($< 50 \text{ mg L}^{-1}$) que evitam seu ressecamento. Um dos procedimentos sugeridos pelo fabricante para remoção dessas substâncias foi aquecer a membrana em água livre de metais em temperatura entre 70 a 80 ° C por 2 horas agitando-a ocasionalmente. O procedimento é repetido por três vezes deixando-se a água decantar em cada repetição.

Após a remoção dos metais, a suspensão de línter foi inserida na membrana, prendendo-se as extremidades com grampos próprios para diálise. O conjunto foi inserido em um recipiente plástico contendo 10 L de água deionizada. Foram feitas trocas de água até pH neutro.

A obtenção de nanopartículas de celulose por processo mecânico, gera partículas com formato acicular, e são denominadas nanocristais. Foi realizado ao final do processo de diálise a sonificação da amostra para a desagregação dos nanocristais de celulose. Esse processo foi feito em um sonificador com potência de 75% durante 15 minutos.

A caracterização da polpa foi feita pela medição do tamanho e distribuição das nanopartículas por DLS - Dynamic Light Scattering (espalhamento dinâmico de luz). O equipamento utilizado foi o Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments). A análise do potencial zeta é um parâmetro utilizado para determinar a estabilidade da suspensão. O resultado dessa análise reflete a carga da superfície das nanopartículas.

É importante levar em consideração na análise do tamanho das partículas por espalhamento de luz é que esta técnica não diferencia o formato acicular dos nanocristais, como o diâmetro ou o comprimento da partícula. A suspensão apresentou o diâmetro médio geral de 93,83 nm. Foram obtidas duas populações, uma com média de 209,3 nm em 94,3 % das leituras, outra com média 17,97 nm em 5,7%, resultado que pode ser observado pela distribuição das partículas dadas pela Figura 2.

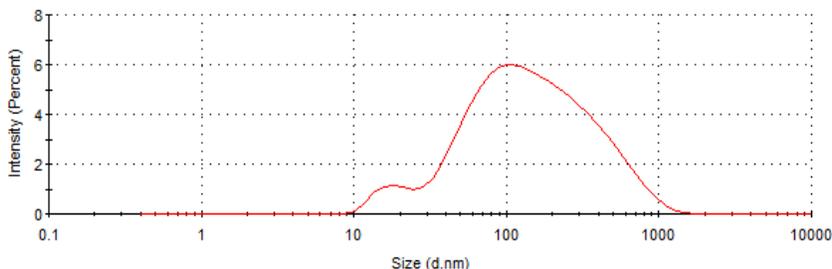


Figura 2 - Análise por espalhamento de luz e suspensão de nanolínter.

De acordo com esses resultados pode-se considerar que o procedimento foi efetivo para a obtenção em nanoescala de nanocristais de celulose, que aqui foram denominadas como nanolínter. Segundo Mao et al. (2017) dependendo do método empregado, a nanocelulose caracterizada por DLS pode apresentar dimensões em submicro (maiores que 100 nm) ou até mesmo em microescala (maiores que 1 μm).

Considerando a tendência de agregação das partículas de celulose outro fator que deve ser levado em conta é a carga superficial das nanopartículas através do potencial zeta. O resultado obtido para a amostra em questão foi de $-32,9 \pm 0,5$ mV. Segundo à Mirhosseini (2008), para que a nanocelulose possa ser considerada estável esta deve possuir uma carga em módulo superior a 25 mV, devido à força de repulsão entre elas. A amostra em encontrou-se dentro dessa especificação.

6 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da metodologia proposta foi possível purificar o línter, um resíduo agroindustrial, agregando valor ao resíduo, resultando em polpa de celulose de elevada pureza para obtenção de nanolínter, material com ampla área de aplicação e alto valor agregado. A etapa de pré-tratamento, considerada a inovação deste trabalho, foi eficiente para a eliminação de impurezas como hemiceluloses e solubilização da matéria inorgânica, observado pela redução do teor de cinzas. Houve a redução do tamanho das fibras do línter o que facilitou o processo de hidrólise ácida, possibilitando a obtenção de uma suspensão de nanolínter homogênea e estável em nanoescala. A etapa de pré-hidrólise prepara a polpa de celulose para a etapa de hidrólise, permitindo a obtenção de nanolínter com uso reduzido de ácido sulfúrico. A redução de reagentes perigosos, bem como a redução na geração de resíduos durante os processos químicos é preconizado pela Química Verde. Desta forma o procedimento proposto gera menor impacto ambiental que procedimentos usuais.

AGRADECIMENTOS

GOVEIA, D. agradece o suporte financeiro obtido pelo processo no. 2019/24684-2, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).
SOUZA, V.de J.C de agradece à bolsa concedida pelo processo no. 2018/21985-9, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

REFERÊNCIAS

ABITBOL, Tiffany et al. **Nanocellulose, a tiny fiber with huge applications**. Current Opinion In Biotechnology, [s.l.], v. 39, p.76-88, jun. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2016.01.002>.

CÉSAR, N.R. **Nanocompósito de acetato de celulose reforçado com whiskers extraídos da macrófita *Typha domingensis***. 2013. 173 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais) - Universidade Federal de São Carlos, Sorocaba, 2013.

MORAIS, J.P.S. et al. **Processo de obtenção de nanocristais de celulose a partir do línter de algodão**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Algodão. Campina Grande : Embrapa Algodão, 2012, 19 p.

DUFRESNE, A. **Nanocellulose: a new ageless bionanomaterial**. Materials Today, v. 16, n. 6, p.220-227, jun. 2013.

FAVERO, D. **Obtenção de micro e nanocelulose para preparação de membranas poliméricas como barreira seletiva**. 2014. 96 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) - Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2014.

FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood: Chemistry, Ultrastructure and Reactions**. Berlin and New York: Walter de Gruyter, 1989. xiii.613p. ISBN 13: 9783110120592.

KALLEL, F.; BETTAIEB, F.; KHIARI, R.; GARCÍA, A.; BRAS, J.; CHAABOUNI, S.E. **Isolation and structural characterization of cellulose nanocrystals extracted from garlic straw residues**. Industrial crops and products, v. 87, p. 287-296, 2016.

LEE, H. V.; HAMID, S. B. A.; ZAIN, S. K.. **Conversion of Lignocellulosic Biomass to Nanocellulose: Structure and Chemical Process**. The Scientific World Journal, Kuala Lumpur, v. 2014, n. , p.1-21, 27 ago. 2014.

MIRHOSSEINI, H.; TAN, C.P.; HAMID, N.S.A.; YUSOF, S. **Effect of Arabic gum, xanthan gum and orange oil contents on zeta-potential, conductivity, stability, size index and pH of orange beverage emulsion**. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, v. 315, n.1-3, p.4756, 2008.

MORGADO, D.L. **Biocompósitos a partir de celulose de línter: filmes de acetatos de celulose/celulose e quitosana/celulose**. 2009. 289 f. Tese (Doutorado em Físico Química), Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

MOTA, E.G. da. **Utilização do línter hidrolisado como fonte de energia**. 2009. 61 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2009.

NETO, W.P.F. et al. **Extraction and characterization of cellulose nanocrystals from agro-industrial residue–Soy hulls.** *Industrial Crops and Products*, v. 42, p. 480-488, 2013.

PHANTHONG, P. et al. **Nanocellulose: Extraction and application.** *Carbon Resources Conversion*, [s.l.], v. 1, n. 1, p.32-43, abr. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.crcon.2018.05.004>.

Standard Method. TAPPI Press: Atlanta, Georgia, USA. CD-ROM, 2002.

TAPPI - Testing Procedures of Technical Association of the Pulp and Paper Industry. In: TAPPI

SOUZA, V. de J. C. **Impacto de nanocelulose na biodisponibilidade de ferro e manganês em sistemas aquáticos.** Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado – Engenharia de Produção) – Universidade Estadual Paulista (Unesp). Campus de Itapeva, 2019, 53 p.

MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DE PEQUI (*Caryocar coriaceum*) EM MATRIZ DE ALGINATO/QUITOSANA POR GELIFICAÇÃO IÔNICA: AVALIAÇÃO DA VISCOSIDADE NA MORFOLOGIA DAS PARTÍCULAS

Data de aceite: 01/09/2020

Herllan Vieira de Almeida

Universidade Estadual de Campinas (Unicamp)
Campinas, SP

Rachel Menezes Castelo

Universidade Estadual do Ceará (UECE)
Fortaleza, CE

Luana Carvalho da Silva

RENORBIO
Universidade Estadual do Ceará (UECE)
Fortaleza, CE

Maria Leônia da Costa Gonzaga

Embrapa Agroindústria Tropical
Fortaleza, CE

Pablyana Leila Rodrigues da Cunha

Universidade Federal do Ceará
Fortaleza, CE

Roselayne Ferro Furtado

Embrapa Agroindústria Tropical
Fortaleza, CE

RESUMO: Óleo de Pequi (*Caryocar coriaceum*) possui alto teor de compostos bioativos identificados em sua composição, o que lhe confere um excelente potencial para utilização nas indústrias alimentícias e farmacêuticas. Dessa forma, a microencapsulação oferece condições favoráveis para o armazenamento e liberação controlada do óleo com o intuito de manter as suas características funcionais por um

tempo maior. A técnica de gelificação iônica foi aplicada para o microencapsulamento do óleo de pequi empregando matriz de quitosana e alginato. Avaliou-se a influência da viscosidade da emulsão de alginato de sódio (0,5%, 1,0%, 1,2%, 1,5%, 2,5% e 3% m/v), bem como do reticulante com quitosana (0,3%, 0,7%, 1,5%, 2,3%, 2,5% e 3% m/v), e a esfericidade das partículas formadas por gelificação iônica. Utilizou-se um equipamento semi- automatizado para o processo de microencapsulamento e observou-se que o aumento da viscosidade da solução reticulante torna as partículas menos esféricas.

PALAVRAS-CHAVE: *Caryocar coriaceum*, gelificação iônica, alginato de sódio, viscosidade.

MICROENCAPSULATION OF PEQUI OIL (*Caryocar coriaceum*) USING ALGINATE / CHITOSAN MATRIX BY IONIC GELIFICATION: VISCOSITY ASSESSMENT IN THE PARTICLE MORPHOLOGY

ABSTRACT: Pequi oil (*Caryocar coriaceum*) has a high content of bioactive compounds in its composition, which provides an excellent potential for use in the food and pharmaceutical industries. Microencapsulation offers favorable conditions for storage and controlled release of the oil in order to maintain its functional characteristics for a longer time. The ionic gelation technique was applied to the microencapsulation of pequi oil using a chitosan and alginate matrix. It was evaluated the influence of the viscosity of the sodium alginate emulsion (0.5%, 1.0%, 1.2%,

1.5%, 2.5% and 3% m/v), as well as the crosslinker solution of chitosan (0, 3%, 0.7%, 1.5%, 2.3%, 2.5% and 3% m/v), and the sphericity of the microparticles. It was used a semi-automated equipment for the microencapsulation and it was observed that the increase in the viscosity of the cross-link solution resulted in particles less spherical.

KEYWORDS: *Caryocar coriaceum*, ionic gelation, sodium alginate, viscosity.

INTRODUÇÃO

O gênero *Caryocar*, conhecido popularmente como Pequi, possui uma ampla distribuição e está representada em vários biomas brasileiros, como Cerrado, Mata Atlântica, Amazônia e Caatinga (ASCARI; TAKAHASHI; BOAVENTURA, 2013; CARVALHO; PEREIRA; ARAÚJO, 2015). O óleo extraído de *Caryocar coriaceum* tem sido utilizado como composto anticonvulsivo, na cicatrização de feridas, como agente anti-inflamatório, e no tratamento de doenças do trato respiratório, incluindo tosse, afecções brônquicas e asma, feridas na pele, para tratamento de dores reumáticas e musculares (ROESLER *et al.*, 2008; BATISTA *et al.*, 2010; RIBEIRO, 2010; SARAIVA *et al.*, 2011; DE FIGUEIREDO *et al.*, 2016; DE LACERDA NETO *et al.*, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2017; PEREIRA *et al.*, 2019). Estudos revelaram atividade antifúngica do óleo, efeito redutor dos processos inflamatórios e na pressão arterial, ação quimioterápica e propriedades antitumorais (BATISTA *et al.*, 2010; HORN *et al.*, 2014; SANTOS; MARINHO; MIGUEL, 2010). Além disso, apresenta atividade antioxidante devido à presença de diversos carotenoides e compostos fenólicos (COLOMBO *et al.*, 2015; ROGÉRIO *et al.*, 2012).

A busca por métodos que consigam manter as características funcionais de compostos bioativos por um tempo maior é sempre um objetivo de interesse para a indústria. A utilização de técnicas de encapsulação é bastante aplicada na indústria alimentícia, pois reduz a reatividade do composto encapsulado com o ambiente, facilita a manipulação dos ingredientes, diminui a perda do valor nutricional, aroma e cor, entre outras vantagens (DIAS *et al.*, 2017).

A gelificação iônica é uma técnica de encapsulação simples, versátil, não utiliza altas temperaturas e nem agitação vigorosa (KARIMIRAD; BEHNAMIAN; DEZHSETAN, 2020). A produção de partículas sem a utilização de solventes orgânicos torna o uso da técnica crescente e promissora, especialmente para a encapsulação de compostos de interesse em alimentos (DE MOURA *et al.*, 2019).

Biopolímeros estão sendo utilizados em conjunto para formação de matrizes com maior potencial de retenção e controle de liberação do material encapsulado (JOYE; MCCLEMENTS, 2014). O complexo alginato-quitosana é formado a partir da forte interação eletrostática dos grupos amino da quitosana com os grupos carboxílicos do alginato (CHAN *et al.*, 2017).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a esfericidade e a viscosidade da

emulsão de alginato de sódio e da solução reticulante de quitosana na formação de microesferas de óleo de pequi por gelificação iônica utilizando um equipamento semi-automatizado

EXPERIMENTAL

Reagentes e Material

Alginato de sódio com grau de pureza de 90%, cloreto de cálcio, ácido acético glacial e Tween 80 (Polissorbato), todos da Dinâmica Química®, Span 80 (Monooleato de sorbitano) da Fluka®, e quitosana de baixo peso molecular (75 a 85% de desacetilação) da Sigma-Aldrich®. O óleo de Pequi foi obtido de Barbalha, no Ceará. A extração do óleo da polpa foi feita por separação física em meio aquoso de acordo com metodologia de Lima et al. (2019).

Preparo das emulsões

As soluções de alginato de sódio foram preparadas com 100 mL de água destilada sob agitação magnética nas concentrações apresentadas na Tabela 1. Para o preparo da fase aquosa, foram misturados 100 mL das soluções de alginato e 0,55 g do emulsificante Tween 80. Em seguida, uma homogeneização foi realizada em Ultra Turrax Marconi® a 12000 rpm por 2 minutos, seguido de 2 minutos no Ultrassom de sonda UP400S Hielscher® com amplitude de 40% e 1 ciclo. Uma fase oleosa foi preparada com 2 g de óleo de Pequi e 0,45 g do emulsificante Span 80. Por fim, a fase aquosa foi vertida na fase oleosa e levada a Ultra Turrax por 5 minutos a 12000 rpm.

Preparo da solução reticulante

Inicialmente, 1,3 g de cloreto de cálcio foram solubilizados em 100 mL da solução contendo 0,5 mL de ácido acético. Em seguida, adicionou-se a quitosana (Tabela 1) e a solução foi homogeneizada em Ultra Turrax a 12000 rpm por 10 minutos.

Alginato (% m/v)	Quitosana (% m/v)	Razão m/m (Alg/Quit)
0,5	1,5	0,3
	0,3	3,3
1,0	1,5	0,7
	3,0	0,3
1,5	0,7	2,1
	2,5	0,6

2,5	0,7	3,6
	2,3	1,1
3,0	1,5	2,0
1,2	*	*

Tabela 1. Proporções de alginato e quitosana utilizadas na produção das micropartículas de óleo da polpa de pequi.

*Amostra controle

Viscosidade das emulsões

As análises de viscosidade foram realizadas com o reômetro R/S+ Rheometer (7023077). Foram preparados 200 mL de cada solução, de forma que se retiraram alíquotas de 50 mL para cada triplicata, onde foram realizadas varreduras ascendente e descendente, variando a taxa de cisalhamento ($\dot{\gamma}$) de $0,000 \text{ s}^{-1}$ a $200,000 \text{ s}^{-1}$. As viscosidades aparentes foram determinadas para o valor $\dot{\gamma}$ de $100,000 \text{ s}^{-1}$.

Produção das micropartículas

As micropartículas foram obtidas com o Encapsulador B-395 da Buchi®, com um bico de $120 \mu\text{m}$, potencial do eletrodo de 300V, frequência de 1800Hz, e agitação em 80%, de acordo com a metodologia de Castelo et al. (2019) com adaptações. As esferas foram deixadas imersas na solução reticulante por 24h para posterior lavagem com água destilada. Em seguida, secara-se as partículas em papel de filtro absorvente para a retirada do excesso de água superficial. Por fim, as esferas foram secas em estufa a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ por 3h.

Esfericidade

Esferas foram observadas em microscópio ótico (Zeiss modelo Axio Imager A2) utilizando aumento de 25x. As micrografias foram obtidas de forma a capturar imagens contendo cinco partículas, escolhidas aleatoriamente, a fim de serem feitas as medidas dos diâmetros das mesmas

O grau de esfericidade das partículas obtidas foi determinado pelo método de Riley (1941), de acordo com a expressão abaixo:

$$\Phi_o = \sqrt{\frac{d}{D}} \quad (1)$$

Onde Φ_o é a esfericidade, d é o maior diâmetro de uma circunferência inscrita e D o maior diâmetro da circunferência circunscrita, ambos em relação a maior seção transversal da partícula.

Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas no programa Statistica Dell versão 13, onde se utilizou o teste de Mann-Whitney para comparação de duas médias com nível de confiança de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao analisar a relação entre concentração e viscosidade dos polímeros (Figura 1), verificou-se que o aumento da concentração do alginato e da quitosana aumentou a viscosidade de suas respectivas soluções. Isso decorre do fato que para menores concentrações, o fluido tem um maior escoamento devido a um menor atrito entre as cadeias dos polímeros. Para maiores concentrações, há uma maior resistência a fluidez devido ao fato dessa interação ser maior (SCHRAMM, 2006).

O equipamento semi-automatizado utilizado neste trabalho emprega a tecnologia de vibração do bico para a produção homogênea e controlada das microesferas com tamanho aproximadamente duas vezes o diâmetro do bico escolhido. A dispersão eletrostática obtida pela aplicação de um potencial elétrico previne a junção das gotículas e a aglomeração. A formação das micropartículas ocorre quando as gotículas entram em contato com a solução de polimerização ou reticulante (DE MOURA et al., 2018).

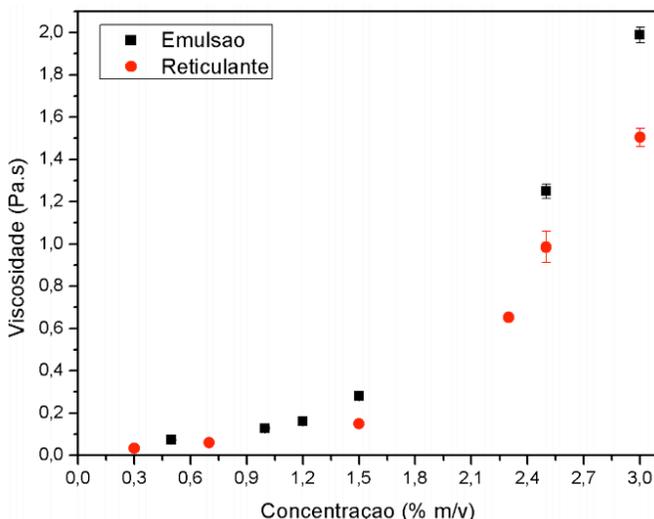


Figura 1. Relação entre viscosidade e concentração de alginato (0,5%, 1,0%, 1,2%, 1,5%, 2,5% e 3,0% m/v) na emulsão (alginato, Tween, Span e óleo de Pequi) e de quitosana (0,3%, 0,7%, 1,5%, 2,3%, 2,5% e 3,0% m/v) no reticulante (quitosana, cloreto de cálcio e ácido acético) para $\dot{\gamma} = 100 \text{ s}^{-1}$.

A determinação da esfericidade das partículas é importante para avaliar se as partículas têm uma morfologia esférica baseado nos parâmetros operacionais selecionados no equipamento. As imagens obtidas pela microscopia ótica das amostras mostraram a variação da morfologia com diferentes proporções entre alginato e quitosana, conforme Figura 2.

A variação das proporções entre alginato e quitosana alteraram significativamente a morfologia das partículas, sendo as formulações A1,0%-Q0,3%, A1,2%-Q0,0%, A1,5%-Q0,7%, e A2,5%-Q0,7% as mais esféricas, como pode ser visto nas micrografias. Notou-se também que gradativamente a esfericidade das partículas diminuiu para concentrações de quitosana acima de 0,7% (m/v). Utilizando o método de Riley (1941) por meio da equação (1), foi possível calcular o grau de esfericidade das partículas, partindo do pressuposto que quanto mais próximo de 1 for o valor de Φ , mais esférica é a morfologia (Figura 3).

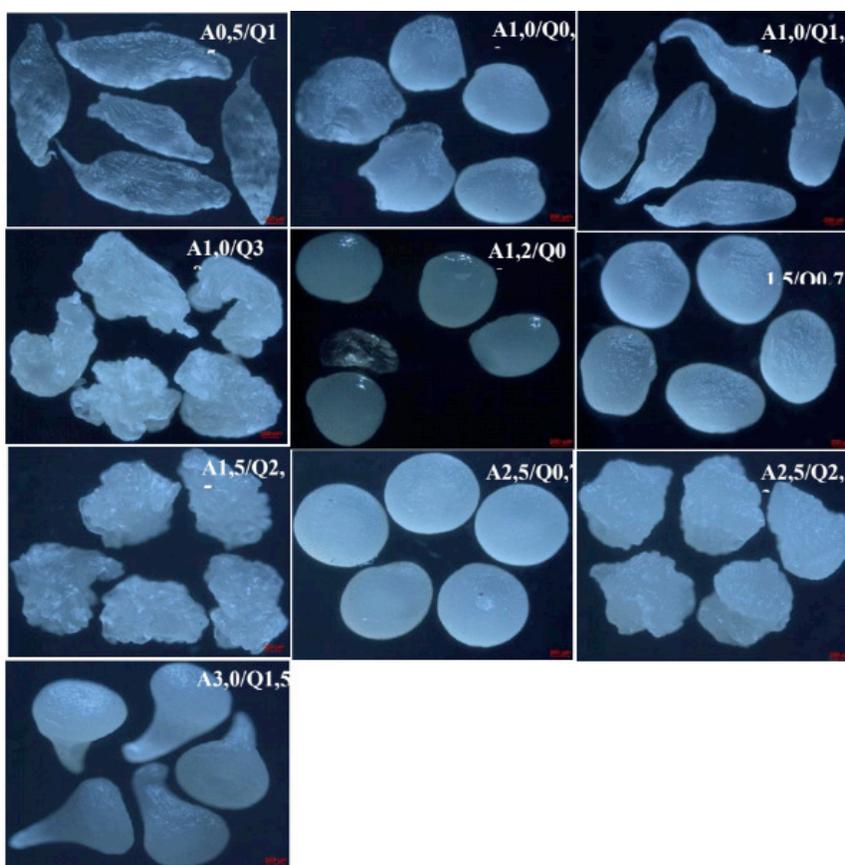


Figura 2. Micrografias das partículas com diferentes proporções entre alginato/ quitosana em % m/v, com aumento de 25x.

As amostras A1,0%-Q0,3%, A1,2%-Q0,0%, A1,5%-Q0,7% e A2,5%-Q0,7% com valores de Φ acima de 0,9, não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$). Para essas formulações, foram utilizadas baixas concentrações de quitosana, variando de 0 a 0,7% (m/v), de modo que as concentrações de alginato foram maiores em todos os casos. As amostras A0,5%-Q1,5% e A1,0%-Q1,5% apresentaram valores de Φ abaixo de 0,6, e todas tiveram uma maior quantidade de quitosana ($p > 0,05$).

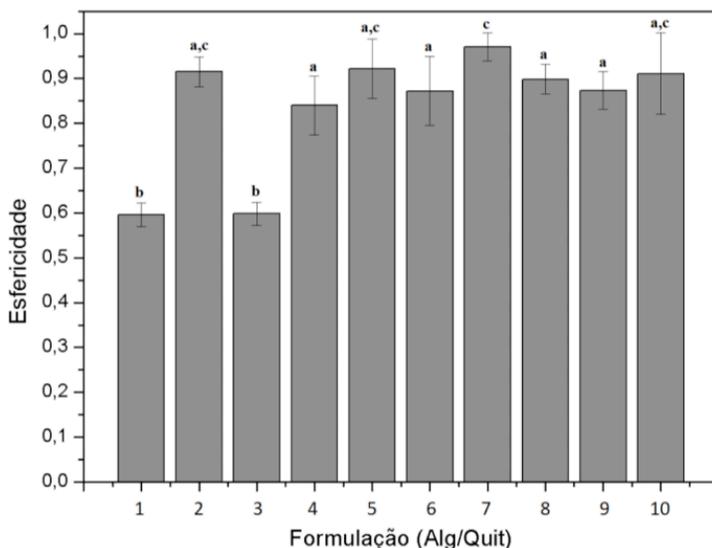


Figura 3 - Grau de esfericidade das micropartículas obtidas nas proporções de alginato/quitosana de A0,5%-Q1,5% (1); A1,0%-Q0,3% (2); A1,0%-Q1,5% (3); A1,0%-Q3,0% (4); A1,5%-Q0,7% (5); A1,5%-Q2,5% (6); A2,5%-Q0,7% (7); A2,5%-Q2,3% (8); A3,0%-Q1,5% (9) e A1,2%-Q0,0% (10) em % m/v.

Diferentes letras representam que há diferença significativa entre os valores ($p < 0,05$).

Ao relacionar os dados de viscosidade com esfericidade, foi visto que o aumento da viscosidade da solução reticulante tornou as partículas menos esféricas, considerando que os menores valores de concentração de quitosana foram as que resultaram em esfericidade de partículas mais próximas de 1. Dessa forma, a viscosidade da solução reticulante influenciou na gelificação das partículas de modo que, possivelmente porque o aumento da viscosidade da emulsão torna o processo de formação das partículas mais lento, bem como maior é o impacto das gotas das emulsões ao tocar a solução reticulante, modificando assim sua morfologia. Inicialmente, a gota da emulsão se desprende do bico do equipamento no momento em que seu peso supera a força de tensão superficial, mas é necessário que a gota

não se deforme no impacto com a superfície da solução reticulante. De acordo com Dang e Joo (2013), a deformação das partículas durante o impacto do gotejamento da emulsão na solução reticulante ocorre devido à diferença entre a tensão superficial do reticulante e das gotas da emulsão. Como a velocidade de gelificação é mais lenta do que o desequilíbrio da tensão superficial, a formação da partícula não ocorre uniformemente, e pode ocorrer o surgimento de uma cauda na partícula, de modo que essa cauda pode ser diminuída aumentando a concentração de cálcio, pois o íon acelera o processo de reticulação tornando-as mais esféricas.

Na matriz das partículas, o alginato de sódio é o componente principal e este sofre uma gelificação rápida na presença de íons cálcio (LI et al., 2002). A quitosana é utilizada para reforçar a parede das micropartículas por complexação eletrolítica favorecendo a encapsulação do agente ativo (RIBEIRO et al., 2005) e impedindo a erosão rápida do gel de alginato (TØNNESEN; KARLSEN, 2002). Outro fator importante a ser considerado, é que o alginato tem uma tendência a adquirir poros em sua estrutura, assim, a presença de quitosana na superfície da micropartícula tende a diminuir a taxa de liberação do núcleo (BHATTARAI; SHRESTHA; DHANDAPANI, 2011; VARGAS, 2017).

CONCLUSÕES

A técnica de gelificação iônica aplicada com a utilização de um equipamento semi- automatizado mostrou-se eficaz no processo de microencapsulação do óleo de pequi utilizando matriz polimérica de alginato e quitosana. As diferentes concentrações de alginato e quitosana conferiram novas propriedades reológicas a emulsão e a solução reticulante, influenciando na esfericidade das partículas. Foi observado que as partículas que tiveram concentração de quitosana acima de 0,7% (m/v) foram as menos esféricas.

REFERÊNCIAS

ASCARI, J.; TAKAHASHI, J. A.; BOAVENTURA, M. A. D. The phytochemistry and biological aspects of Caryocaraceae family. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 2, p. 293–308, 2013.

BATISTA, J. S. et al. Avaliação da atividade cicatrizante do óleo de pequi (*Caryocar Coriaceum* Wittm) em feridas cutâneas produzidas experimentalmente em ratos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 3, p. 441–447, 2010.

BHATTARAI, R.; SHRESTHA, A.; DHANDAPANI, N. Drug delivery using alginate and chitosan beads: An Overview. **Chronicles of Young Scientists**, v. 2, n. 4, p. 192, 2011.

BUCHI, B. L. A. Encapsulador B-390 / B-395 Pro - Laboratory Guide. p. 58, 2014.

CARVALHO, L. S. DE; PEREIRA, K. F.; ARAÚJO, E. G. DE. CARACTERÍSTICAS BOTÂNICAS, EFEITOS TERAPÊUTICOS E PRINCÍPIOS ATIVOS PRESENTES NO PEQUI (*Caryocar brasiliense*). **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 19, n. 2, p. 147–157, 2015.

CASTELO, R. M.; Da SILVA, L.C.; RIBEIRO, H.L.; MATTOS, A. L. A.; FURTADO, R. F. Microencapsulação do óleo da polpa de pequi (*Caryocar coriaceum*) em matriz polimérica de quitosana / alginato. 15o Congresso Brasileiro de Polímeros. **Anais**. 2019.

CHAN, S. Y. et al. Pectin as a rheology modifier: Origin, structure, commercial production and rheology. **Carbohydrate Polymers**, v. 161, p. 118–139, 2017.

COLOMBO, N. B. R. et al. Caryocar brasiliense camb protects against genomic and oxidative damage in urethane-induced lung carcinogenesis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 48, n. 9, p. 852–862, 2015.

DANG, T. D.; JOO, S. W. Preparation of tadpole-shaped calcium alginate microparticles with sphericity control. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 102, p. 766–771, 2013.

DE FIGUEIREDO, P. R. L. et al. *Caryocar coriaceum* Wittm. (Pequi) fixed oil presents hypolipemic and anti-inflammatory effects in vivo and in vitro. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 191, p. 87–94, 2016.

DE LACERDA NETO, L. J. et al. Modulation of antibiotic activity by the hydroalcoholic extract from leaves of *Caryocar coriaceum* WITTM. **Natural Product Research**, v. 32, n. 4, p. 477–480, 2018.

DE MOURA, S. C. S. R. et al. Release of anthocyanins from the hibiscus extract encapsulated by ionic gelation and application of microparticles in jelly candy. **Food Research International**, v. 121, n. December 2018, p. 542–552, 2018.

DE MOURA, S. C. S. R. et al. Stability of Hibiscus Extract Encapsulated by Ionic Gelation Incorporated in Yogurt. **Food and Bioprocess Technology**, v. 12, n. 9, p. 1500–1515, 2019.

DIAS, D. R. et al. Encapsulation as a tool for bioprocessing of functional foods. **Current Opinion in Food Science**, v. 13, p. 31–37, 2017.

HORN, M. M. et al. DEVELOPMENT AND RHEOLOGICAL EVALUATION OF CHITOSAN : PEQUI OIL GELS. n. April, p. 2014, 2014.

JOYE, I. J.; MCCLEMENTS, D. J. Biopolymer-based nanoparticles and microparticles: Fabrication, characterization, and application. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 19, n. 5, p. 417–427, 2014.

KARIMIRAD, R.; BEHNAMIAN, M.; DEZHSETAN, S. Bitter orange oil incorporated into chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and their potential application on antioxidant and antimicrobial characteristics of white button mushroom. **Food Hydrocolloids**, v. 100, n. September 2019, p. 105387, 2020.

LI, S. et al. Studies on alginate-chitosan microcapsules and renal arterial embolization in rabbits. **Journal of Controlled Release**, v. 84, n. 3, p. 87–98, 2002.

LIMA, A. C. et al. Obtenção do Óleo da Polpa de Pequi por Separação Física Utilizando-se Centrifugação. EMBRAPA COMUNICADO TÉCNICO 254, p. 6, 2019.

OLIVEIRA, C. C. et al. Anticonvulsant activity of *Caryocar coriaceum* Wittm . fixed pulp oil against pentylenetetrazol- induced seizures. **Neurological Research**, v. 6412, n. May, p. 0, 2017.

PEREIRA, F. F. G. et al. Characterization, antibacterial activity and antibiotic modifying action of the *Caryocar coriaceum* Wittm. pulp and almond fixed oil. **Natural Product Research**, v. 0, n. 0, p. 1–5, 2019.

RILEY, N. A. Projection Sphericity. *J. Sediment. Petrol.*, v. 11, n. 2, p. 94–97, 1941.

RIBEIRO, A. J. et al. Chitosan-reinforced alginate microspheres obtained through the emulsification/internal gelation technique. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 25, n. 1, p. 31–40, 2005.

ROGÉRIO, J. B. et al. **Variação da composição dos ácidos graxos dos óleos de polpa e amêndoa de pequi**. SALVADOR - BAHIA, 2012.

SANTOS, G. G.; MARINHO, S. M. O.; MIGUEL, F. B. ARTIGO DE REVISÃO Polímeros como biomateriais para o tecido cartilaginoso *Polymers as biomaterials for cartilaginous tissue*. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, n. 1677–5090, p. 367–373, 2010.

SCHRAMM, G. Reologia e reometria: fundamentos teóricos e práticos. 2. ed. São Paulo, SP: Artliber Editora, 2006.

TØNNESEN, H. H.; KARLSEN, J. Alginate in drug delivery systems. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 28, n. 6, p. 621–630, 2002.

VARGAS, P. O. **Secagem de partículas de alginato de cálcio**. 95f. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (Dissertação), Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. 2017.

MODELAGEM CINÉTICA DA DESCOLORAÇÃO DO CORANTE CROMOTROPE 2R POR PROCESSOS FENTON MEDIADOS POR FENÓIS DERIVADOS DE LIGNINA

Data de aceite: 01/09/2020

Data de submissão: 04/06/2020

Cássia Sidney Santana

Universidade Federal de São João del-Rei –
UFSJ, Campus Alto Paraopeba
Ouro Branco – MG
<http://lattes.cnpq.br/3509883977768534>

Camila Cristina Vieira Velloso

Universidade Federal de São João del-Rei –
UFSJ, Campus Alto Paraopeba
Ouro Branco – MG
<http://lattes.cnpq.br/1141170891615232>

André Aguiar

Universidade Federal de Itajubá – Unifei,
Instituto de Recursos Naturais
Itajubá – MG
<http://lattes.cnpq.br/1409264122407992>
<https://orcid.org/0000-0001-6068-5337>

RESUMO: Fenóis derivados de lignina (FDLs) com atividade redutora de Fe^{3+} foram utilizados como mediadores em processos Fenton ($\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$, $\text{Fe}^{3+}/\text{H}_2\text{O}_2$). A partir dos dados de descoloração oxidativa do corante cromotrope 2R fez-se uma análise cinética com base nos modelos de ordem zero, 1^a e 2^a ordens e BMG. Verificou-se que os FDLs apresentaram propriedades pro-oxidantes devido ao aumento nos valores das constantes de velocidade das reações, promovendo consequentemente maior descoloração do corante. BMG e o modelo de 2^a ordem foram os mais adequados para descrever

os sistemas reacionais contendo inicialmente Fe^{2+} e Fe^{3+} , respectivamente. A vanilina foi um pouco mais efetiva que os outros mediadores testados.

PALAVRAS-CHAVE: Modelagem cinética, reação de Fenton, corante, radical hidroxila, propriedades pro-oxidantes.

KINETIC MODELING OF THE CHROMOTROPE 2R DYE DISCOLORATION BY FENTON PROCESSES MEDIATED BY LIGNIN-DERIVED PHENOLS

ABSTRACT: Lignin-derived phenols (LDPs) with Fe^{3+} reducing activity were used as mediators in Fenton processes ($\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$, $\text{Fe}^{3+}/\text{H}_2\text{O}_2$). Through oxidative discoloration data of the chromotrope 2R dye, a kinetic analysis was performed with basis on the zero order, 1st- and 2nd-order models and BMG. It was found that the LDPs showed pro-oxidant properties due to the increase in rate constant values, promoting consequently higher discoloration of the dye. BMG and 2nd-order models were the most adequate to describe the reaction systems initially containing Fe^{2+} and Fe^{3+} , respectively. Vanillin was slightly more effective than other mediators tested.

KEYWORDS: Kinetic modeling, Fenton reaction, dye, hydroxyl radical, pro-oxidant properties.

INTRODUÇÃO

Processos oxidativos avançados (POAs) são formas de tratamento baseadas na ação de radicais livres, principalmente o radical hidroxila

(HO•), com o intuito de degradar diversos poluentes orgânicos. Um dos POAs mais promissor consiste na reação de conversão do H₂O₂ catalisada por Fe²⁺, conhecida como reação de Fenton (Fe²⁺ + H₂O₂ → Fe³⁺ + HO• + HO⁻, *k* = 50-80 mol⁻¹ L s⁻¹) (AGUIAR et al., 2007). Todavia, o Fe³⁺ acumulado deve ser regenerado a Fe²⁺. O Fe³⁺ também reage com H₂O₂, sendo conhecida como reação tipo Fenton (Fe³⁺ + H₂O₂ → Fe²⁺ + HO₂• + H⁺, *k* = 0,002-0,01 mol⁻¹ L s⁻¹). No entanto, esta é muito lenta em regenerar Fe²⁺ e o radical hidropoxila (HO₂•) formado apresenta menor potencial redox em comparação ao HO• (AGUIAR et al., 2007; ARAÚJO et al., 2016).

O uso de compostos fenólicos redutores de Fe³⁺ em processos baseados na reação de Fenton pode promover maior regeneração de Fe²⁺ em comparação ao H₂O₂, o que proporciona uma maior geração de HO• (AGUIAR et al., 2007). Fenóis derivados de lignina (FDLs) são substâncias naturais que tem proporcionado incrementos na degradação de diferentes corantes por processos Fenton (SANTANA e AGUIAR, 2016; SOUZA e AGUIAR, 2017). Isso se deve às suas propriedades redutoras, decorrente dos grupos hidroxila e metoxila vicinais no anel aromático, os quais são oxidados com a regeneração de Fe²⁺ (AGUIAR e FERRAZ, 2007).

Em um dos estudos prévios mencionados anteriormente do nosso grupo (SANTANA e AGUIAR, 2016), é válida uma avaliação por modelagem cinética que descreva como os FDLs influenciam a descoloração de um determinado corante, ou seja, verificar de forma alternativa as propriedades pro-oxidantes desses compostos. O efeito de di-hidroxibenzenos e ácido gálico na descoloração de soluções contendo corantes por processos Fenton pôde ser melhor interpretado por modelos cinéticos (SANTANA et al., 2019a; 2019b). Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo realizar uma análise baseada em diferentes modelos cinéticos (ordem zero, 1^a e 2^a ordens e BMG) envolvendo a descoloração do corante cromotrope 2R por processos Fenton homogêneos (Fe²⁺/H₂O₂, Fe³⁺/H₂O₂) mediados por seis FDLs com propriedades redutoras. A Figura 1 ilustra a estrutura química do corante e dos FDLs avaliados.

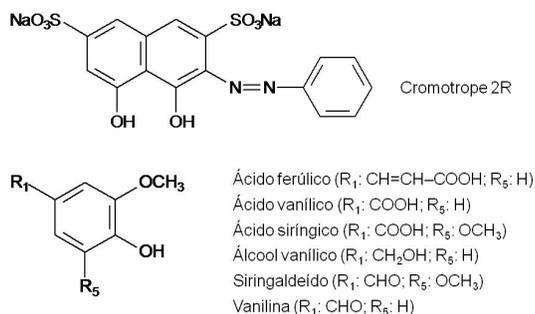


Figura 1. Estrutura dos compostos orgânicos avaliados no presente trabalho.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos de descoloração foram realizados conforme Santana e Aguiar (2016) e segue uma breve descrição dos mesmos. Em cubetas de quartzo de 3 mL foram adicionados 200 μL de H_2O_2 4,5 mmol L^{-1} , 200 μL de H_2SO_4 10 mmol L^{-1} (visando ajustar o pH entre 2,5 e 3,0), 200 μL de cromotrope 2R 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 200 μL de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ou FeSO_4 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para iniciar as reações tipo Fenton ou Fenton clássica, respectivamente. As soluções de sais de ferro foram preparadas imediatamente antes de cada reação. Para os experimentos na presença dos FDLs, 200 μL de solução 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ destes compostos foram adicionados individualmente. Avolumou-se a cubeta com água deionizada para 2 mL. Leituras de absorbância em 513 nm foram realizadas em um espectrofotômetro Libra S50 (Biochrom). A descoloração do corante foi monitorada após 5, 10, 20, 40 e 60 min. Preparou-se o branco, isento de corante e sais de ferro, com água deionizada. Os ensaios foram realizados em duplicata, ao abrigo da luz e à temperatura ambiente. A descoloração do corante foi determinada conforme Equação 1:

$$\% \text{ Descoloração} = \left(1 - \frac{C_t}{C_0}\right) \times 100\% \quad (1)$$

sendo C_0 e C_t as concentrações inicial e no tempo t para o corante, respectivamente. Com base nos valores de concentração do corante, a análise cinética foi realizada a partir dos modelos de ordem zero, 1^a e 2^a ordens (LEVENSPIEL, 2000) e o modelo proposto por Behnajady, Modirshahla e Ghanbary (2007) (modelo BMG), conforme Tabela 1:

Modelo Cinético	Equações
Ordem zero	$C_t = C_0 - k_0 \cdot t$
1 ^a ordem	$\ln(C_t) = \ln(C_0) - k_1 \cdot t$
2 ^a ordem	$\frac{1}{C_t} = \frac{1}{C_0} + k_2 \cdot t$
BMG	$\frac{t}{\left(1 - C_t/C_0\right)} = m + b \cdot t$

Tabela 1. Equações linearizadas dos modelos cinéticos avaliados.

sendo k_0 , k_1 e k_2 as constantes cinéticas obtidas para os modelos de ordem zero, 1^a e 2^a ordens, respectivamente, e m e b as duas constantes características do modelo BMG, cujo os inversos correspondem às velocidade inicial ($1/m$) e

capacidade oxidativa ($1/b$), respectivamente (BEHNAJADY et al., 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 2 apresenta os dados da descoloração do cromotrope 2R por reação tipo Fenton na ausência dos FDLs e na presença de vanilina e do ácido vanílico, com base no modelo cinético de 1ª ordem. Pode-se observar que na presença dos FDLs a declinação das curvas é consideravelmente maior, indicando um incremento nos valores das constantes de velocidade de descoloração. Os resultados dos parâmetros cinéticos encontrados para os diferentes modelos analisados encontram-se na Tabela 2. Também foram calculados os valores médios dos coeficientes de correlação ($R^2_{\text{médio}}$) a fim de avaliar o modelo cinético mais adequado para descrever um determinado conjunto de reações.

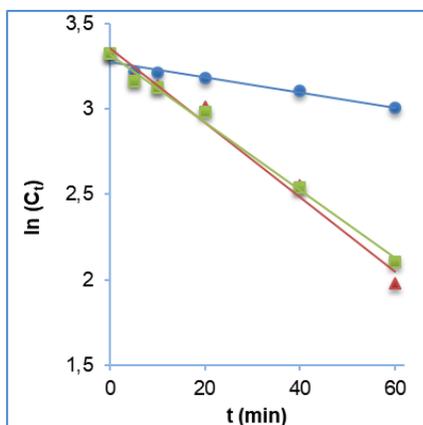


Figura 2. Dados de descoloração do corante cromotrope 2R conforme o modelo cinético de 1ª ordem. Sistemas reacionais: $\text{Fe}^{3+}/\text{H}_2\text{O}_2$ (●), $\text{Fe}^{3+}/\text{H}_2\text{O}_2$ /vanilina (▲) e $\text{Fe}^{3+}/\text{H}_2\text{O}_2$ /ácido vanílico (■). Condições reacionais: $[\text{Fe}^{3+}] = 30 \mu\text{mol L}^{-1}$; $[\text{H}_2\text{O}_2] = 450 \mu\text{mol L}^{-1}$; $[\text{cromotrope 2R}] = 30 \mu\text{mol L}^{-1}$; $[\text{FDL}] = 10 \mu\text{mol L}^{-1}$; $\text{pH} = 2,5-3,0$.

Sistema Reacional	% Descoloração	ORDEM ZERO		1ª ORDEM		2ª ORDEM		BMG		
		k_0 ($\mu\text{mol L}^{-1} \text{min}^{-1}$)	R^2	k_1 (min^{-1})	R^2	k_2 ($\text{L } \mu\text{mol}^{-1} \text{min}^{-1}$)	R^2	$1/m$ (min^{-1})	$1/b$	R^2
Fe³⁺										
Sem FDLs	27,00 ± 0,16	0,1043	0,9058	0,0045	0,9287	0,0002	0,9450	0,0243	0,2821	0,8648
Ácido Ferúlico	73,11 ± 0,31	0,3227	0,9800	0,0212	0,9942	0,0016	0,9483	0,0397	0,9067	0,7412
Ácido Vanílico	70,44 ± 0,31	0,3137	0,9812	0,0198	0,9930	0,0014	0,9581	0,0361	0,8904	0,6922
Ácido Siringico	69,11 ± 0,31	0,3080	0,9689	0,0193	0,9972	0,0013	0,9807	0,0406	0,8592	0,7726
Álcool Vanílico	72,22 ± 0,63	0,3074	0,9522	0,0203	0,9922	0,0015	0,9681	0,0529	0,8304	0,8438
Siringaldeído	69,11 ± 0,94	0,3029	0,9571	0,0191	0,9950	0,0013	0,9854	0,0465	0,8281	0,8234
Vanilina	74,00 ± 0,63	0,3312	0,9910	0,0218	0,9812	0,0016	0,9183	0,0314	0,9791	0,5817
R^2 médio			0,9623		0,9831		0,9577			0,7599
Fe²⁺										
Sem FDLs	72,18 ± 0,80	0,2350	0,5883	0,0170	0,7728	0,0014	0,9202	0,2377	0,7388	0,9922
Ácido Ferúlico	82,09 ± 0,48	0,3016	0,8108	0,0250	0,9536	0,0025	0,9321	0,1205	0,8499	0,9565
Ácido Vanílico	84,80 ± 0,48	0,3041	0,7887	0,0268	0,9404	0,0030	0,8940	0,1311	0,8654	0,9556
Ácido Siringico	79,84 ± 0,48	0,2926	0,7974	0,0232	0,9456	0,0022	0,9527	0,1213	0,8285	0,9589
Álcool Vanílico	83,67 ± 0,16	0,3026	0,7918	0,0261	0,9472	0,0028	0,9205	0,1287	0,8616	0,9567
Siringaldeído	82,77 ± 0,16	0,2882	0,7642	0,0244	0,9205	0,0025	0,8928	0,1344	0,8340	0,9525
Vanilina	86,37 ± 0,48	0,3161	0,7974	0,0290	0,9525	0,0035	0,8991	0,1301	0,8928	0,9582
R^2 médio			0,7627		0,9189		0,9159			0,9615

Tabela 2. Diferentes sistemas reacionais avaliados e respectivas porcentagens de descoloração, constantes cinéticas dos modelos de ordem zero (k_0), 1ª (k_1) e 2ª (k_2) ordens, parâmetros do modelo BMG ($1/m$, $1/b$) e coeficientes de correlação (R^2).

Para as reações contendo inicialmente Fe³⁺ valores médios superiores a 0,9 foram observados para os coeficientes de correlação (R^2) considerando os modelos de ordem zero, 1ª e 2ª ordens. Para as reações contendo inicialmente Fe²⁺ os valores de R^2 médio superiores a 0,9 foram encontrados para os modelos de 1ª e 2ª ordens e BMG. A adequação de mais de um modelo cinético para um determinado conjunto de reações também é comum na literatura (OU et al., 2013; SANTANA et al., 2019a; 2019b). Ao comparar os mesmos modelos do presente estudo, considerando-se um bom ajuste aqueles que apresentaram coeficientes de correlação superiores a 0,9, Santana et al. (2019a) mostrou que a descoloração do azocorante alaranjado de metila por processos Fenton mediados por di-hidroxibenzenos e ácido gálico foi bem descrita pelos modelos de 1ª e 2ª ordens e o BMG foi o único que se ajustou bem às reações sem os compostos fenólicos, Fe²⁺/H₂O₂ e Fe³⁺/H₂O₂. Considerando-se que valores de correlação mais próximos à unidade revelam um melhor ajuste de um modelo para um determinado conjunto de reações, pode-se afirmar que os modelos BMG e de 1ª ordem foram os mais adequados para descrever as reações contendo inicialmente Fe²⁺ e Fe³⁺, respectivamente.

Comparando-se os valores das constantes cinéticas dos modelos de 1ª (k_1) e 2ª ordens (k_2), observou-se um aumento significativo das mesmas com a presença dos FDLs. Por exemplo, o valor de k_1 aumentou 4,8 e 1,7 vezes para os sistemas Fe³⁺/H₂O₂/Vanilina e Fe²⁺/H₂O₂/Vanilina, respectivamente, se comparados às reações sem mediador. Para o modelo de ordem zero, valores de k_0 foram também incrementados em reações contendo inicialmente Fe³⁺.

De acordo com os parâmetros do modelo BMG para as reações contendo inicialmente Fe^{2+} , observou-se uma redução em torno de 50% nas taxas iniciais ($1/m$) de remoção do corante para os tratamentos com FDLs, embora a capacidade de oxidação ($1/b$) na presença destes seja maior, de 12 a 20%. Essa diminuição nas taxas iniciais de descoloração do cromotrope 2R corrobora a inibição observada no início dos ensaios contendo os FDLs (SANTANA e AGUIAR, 2016), enquanto o aumento nos valores de $1/b$ sugere maior produção de radicais HO^\bullet na presença deles.

Pode-se constatar, portanto, que todos os FDLs apresentaram propriedades pro-oxidantes ao incrementar a descoloração do cromotrope 2R. O aumento nas constantes de velocidade de reação pode ser atribuído à redução contínua de Fe^{3+} a Fe^{2+} por esses fenóis, gerando mais radicais HO^\bullet (AGUIAR et al., 2007). Dentre os FDLs, a vanilina foi um pouco mais efetiva que os outros, independente do estado de oxidação do ferro.

CONCLUSÕES

A partir da modelagem cinética da descoloração do cromotrope 2R por processos Fenton ($\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$, $\text{Fe}^{3+}/\text{H}_2\text{O}_2$) utilizando FDLs redutores de Fe^{3+} , constatou-se que esses mediadores possuem propriedades pro-oxidantes devido ao aumento nas constantes de velocidade das reações, promovendo conseqüentemente maior descoloração. Em função dos coeficientes de correlação, BMG e o modelo de 2ª ordem foram os mais adequados para descrever os sistemas reacionais contendo inicialmente Fe^{2+} e Fe^{3+} , respectivamente. Baseado no modelo BMG, a presença de FDLs reduziu as taxas iniciais de descoloração, mas aumentou a capacidade oxidativa, indicando maior produção de radicais livres.

AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos à FAPEMIG, processos APQ-01898-17 e APQ-01585-11.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, A.; FERRAZ, A. **Fe^{3+} - and Cu^{2+} -reduction by phenol derivatives associated with Azure B degradation in Fenton-like reactions.** Chemosphere, v. 66, p. 947-954, 2007.

AGUIAR, A.; FERRAZ, A.; CONTRERAS, D.; RODRÍGUEZ, J. **Mecanismo e aplicações da reação de Fenton assistida por compostos fenólicos.** Química Nova, v. 30, p. 623-628, 2007.

ARAÚJO, K. L.; ANTONELLI, R.; GAYDECZKA, B.; GRANATO, A. C., MALPASS, G. R. **P. Processos oxidativos avançados: uma revisão de fundamentos e aplicações no tratamento de águas residuais urbanas e efluentes industriais.** Revista Ambiente & Água, v. 11, p. 387-401, 2016.

BEHNAJADY, M. A.; MODIRSHAHLA, N.; GHANBARY, F. **A kinetic model for the decolorization of C.I. Acid Yellow 23 by Fenton process.** Journal of Hazardous Materials, v. 148, p. 98-102, 2007.

LEVENSPIEL, O. **Engenharia das reações químicas.** 3ª ed, São Paulo: Editora Edgard Blücher, 2000.

OU, X.; WANG, C.; ZHANG, F.; SUN, H.; WUYUNNA. **Degradation of methyl violet by Fenton's reagent: kinetic modeling and effects of parameters.** Desalination and Water Treatment, v. 51, p. 2536-2542, 2013.

SANTANA, C. S.; AGUIAR, A. **Effect of lignin-derived methoxyphenols in dye decolorization by Fenton systems.** Water, Air, & Soil Pollution, v. 227, p. 48, 2016.

SANTANA, C. S.; VELLOSO, C. C. V.; AGUIAR, A. **Estudo cinético da descoloração do azocorante alaranjado de metila por processos Fenton na presença de di-hidroxibenzenos e ácido gálico.** Revista Virtual de Química, v. 11, p. 104-114, 2019a.

SANTANA, C. S.; VELLOSO, C. C. V.; AGUIAR, A. **Um estudo cinético sobre a influência de mediadores fenólicos na descoloração de diferentes corantes por sistemas Fenton.** Química Nova, v. 42, p. 149-155, 2019b.

SOUZA, J. L.; AGUIAR, A. **Adição de fenóis derivados de lignina em processos Fenton para aumentar a degradação do corante diazo Pardo Bismarck Y.** Revista Virtual de Química, v. 9, p. 1525-1534, 2017.

ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM LIMÃO: ESTRATÉGIA PARA A PROTEÇÃO DE SEMENTES E GRÃOS VISANDO A AGRICULTURA ORGÂNICA

Data de aceite: 01/09/2020

Data de submissão: 02/06/2020

Marcela de Souza Alves

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Seropédica – Rio de Janeiro
<http://lattes.cnpq.br/6015830328392716>

Elisabeth Alves Duarte Pereira

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Seropédica – Rio de Janeiro
<http://lattes.cnpq.br/5522156198714341>

Erica Prilips Esposito

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Seropédica – Rio de Janeiro
<http://lattes.cnpq.br/5672673553756913>

Ana Flávia Carvalho da Silva

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Seropédica – Rio de Janeiro
<http://lattes.cnpq.br/7103622643194950>

Emerson Guedes Pontes

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Seropédica – Rio de Janeiro
<http://lattes.cnpq.br/1562085358907265>
<https://orcid.org/0000-0002-2679-238X>

Marco Andre Alves de Souza

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Seropédica – Rio de Janeiro
<http://lattes.cnpq.br/2162032695884224>
<https://orcid.org/0000-0003-2173-3513>

impacta negativamente o meio ambiente, os animais e a saúde humana. A agricultura orgânica e/ou livre de agrotóxicos é uma alternativa aos meios de produção que se apropriam de insumos sintéticos e agrotóxicos para a produção e proteção das culturas. O presente trabalho descreve o método químico de proteção de sementes baseado em um produto natural para a proteção de sementes e grãos de feijão. O objetivo consistiu em verificar o efeito protetor do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* DC, Stapf) frente ao inseto praga caruncho do feijão-caupi (*Callosobruchus maculatus* Fab.), o efeito residual protetor ao longo do tempo e o efeito sobre a germinação de sementes de feijão (*Vigna unguiculata* L., Walp.), assim como, a atividade antifúngica *in vitro* sobre fungos de armazenamento (*Fusarium* spp., *Colletrochium* spp, *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp). Os resultados mostraram que as sementes revestidas com o óleo essencial de capim limão inibe o ciclo reprodutivo do inseto praga, principalmente até 90 dias de armazenadas as sementes. O óleo essencial não interferiu na germinação das sementes e foi observado efeito antifúngico do óleo em testes *in vitro* contra todos os fungos testados. O óleo essencial de capim limão apresenta potencial aplicação para a proteção de sementes contra o inseto pragas e fungos de armazenamento.

PALAVRAS-CHAVE: Capim limão, óleo essencial, atividade biológica.

RESUMO: O uso irresponsável de agrotóxicos

LEMONGRASS ESSENTIAL OIL: STRATEGY FOR PROTECTING SEEDS AND GRAINS AIMING AT ORGANIC AGRICULTURE

ABSTRACT: The irresponsible pesticides uses has a negative impact on the environment, animals and human health. The organic farming and/or free pesticide is an alternative to means of production that uses synthetic compounds and pesticides for the production and crop protection. The present work describes the chemical method of seed protection based on a natural product for the protection of bean seeds and grains. The objective was to verify the lemongrass essential oil protective effect (*Cymbopogon citratus* DC, Stapf) against the cowpea pest insect (*Callosobruchus maculatus* Fab.), the residual protective effect over time and the effect on the bean seeds germination (*Vigna unguiculata* L., Walp.), as well as the *in vitro* antifungal activity on storage fungi (*Fusarium* spp., *Colletrochium* spp, *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp). The results show that seeds coated with the lemongrass essential oil inhibits the insect pest reproductive cycle, especially up to 90 days of stored seeds. The essential oil did not interfere in the seed germination and an essential oil antifungal effect was observed in *in vitro* tests against all tested fungi. The lemongrass essential oil has a potential application for protecting seeds against insect pests and storage fungi.

KEYWORDS: Lemongrass, essential oil, biological activity.

1 | INTRODUÇÃO

Cabe ao engenheiro agrônomo desenvolver soluções aos diversos problemas relativos à agricultura e aos impactos dessa atividade econômica fundamental a sobrevivência da população. Não são poucos os impactos da atividade agrícola sobre o meio ambiente. Neste contexto, a utilização irresponsável de produtos químicos sintéticos produzidos a partir de matrizes fósseis para o controle sanitário de pragas e doenças, chamados popularmente de agrotóxicos, tem sido responsável por intoxicações e contaminações de pessoas, animais e dos recursos hídricos (AL NAGGAR *et al.*, 2015; KIM; KABIR; JAHAN, 2017; MAHMOOD *et al.*, 2016; WAGNER *et al.*, 2014). O Brasil de hoje tem sido um péssimo exemplo no que diz respeito a certificação/liberação e a fiscalização do uso dessas substâncias sintéticas na agricultura (HADDAD *et al.*, 2019; MOSMANN; ALBUQUERQUE; BARBIERI, 2019).

A revolução verde foi um movimento científico e governamental que teve início em 1940 com a finalidade de promover ações que levassem ao aumento da produtividade agricultura, baseados em melhoramento vegetal, fertilização, manejo do solo e controle de pragas e doenças, que teve a pretensão de acabar com a fome no planeta (DUTRA; SOUZA, 2017; NUNES; DIAS; SILVA, 2018; SERRA *et al.*, 2016). A agricultura orgânica tem se apresentado em antagonismo aos sistemas produtivos que se destacaram após a revolução verde, adotando no seu sistema produtivo tecnologias e práticas livres de substâncias sintéticas, para o controle de doenças e pragas (EHLERS, 2017; WEZEL *et al.*, 2014).

A aplicação de substâncias naturais, incluindo os óleos essenciais, tem sido amplamente estudada e os resultados, de modo geral, fundamentaram um crescente número de artigos científicos e de patentes para o controle de insetos em ambiente doméstico e de pragas agrícolas (REGNAULT-ROGER; VINCENT; ARNASON, 2012). O óleo essencial é um produto natural, uma mistura complexa de substâncias, obtido das plantas por técnicas específicas que envolvem a destilação com vapor de água ou a expressão de epicarpo de frutos cítricos (ISO-9235, 2013).

Diferentes grupos de pesquisa vêm trabalhando intensamente para compreender como os óleos essenciais afetam o metabolismo e a fisiologia dos insetos (ADORJAN; BUCHBAUER, 2010; ALVES *et al.*, 2019). Os trabalhos têm início com a observação do efeito do óleo essencial sobre o ciclo e o comportamento sexual dos insetos, depois avalia-se como isso afeta o metabolismo e se os resultados são coerentes com aqueles observados durante o ciclo de vida do inseto. Com base nos resultados experimentais surgem as propostas de aplicações tecnológicas, as quais necessitam de validação experimental em escala laboratorial e de campo (Figura 1).



Figura 1. A avaliação do efeito do óleo essencial de capim limão é baseada em alguns aspectos do ciclo reprodutivo do caruncho do feijão-caupi, como a mortalidade de insetos adultos, postura de ovos e surgimento de novos adultos após os estágios larvais no interior do grão, assim com, sobre o metabolismo. Quando os resultados são promissores as propostas de novas tecnologias são implementadas e testadas em escalas laboratoriais e de campo.

No presente trabalho, propomos a proteção de sementes de feijão revestidos com óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) que se mostrou eficiente em controlar o ciclo reprodutivo do caruncho do feijão-caupi (*Callosobruchus maculatus*). O capim-limão é uma espécie cosmopolita originária do sudeste asiático e de fácil cultivo, portanto, é uma matéria prima vegetal de fácil obtenção para a extração de óleo essencial. O óleo essencial, por sua vez, é obtido facilmente por hidrodestilação, pode ser realizada em qualquer propriedade agrícola e se apresenta como um produto rico em citral, que é a principal substância que confere propriedades biológicas ao óleo essencial. O citral é uma mistura de dois isômeros, neral e geranial, monoterpênos oxigenados, que normalmente constituem 70% do óleo essencial de capim-limão.

A metodologia proposta neste trabalho não envolve o uso de solventes derivados do petróleo, nem produtos sintéticos. O modelo metodológico aplicado em escala laboratorial tem como premissa o efeito biológico do óleo essencial de capim limão sobre doenças e pragas, e tem início no revestimento de sementes de feijão-caupi com o óleo essencial de capim-limão, em seguida, a avaliação do efeito residual protetor ao longo de 180 dias frente a infestação com o inseto praga do feijão-caupi, *C. maculatus*, e a análise química do resíduo de óleo essencial sobre a superfície das sementes ao longo de 180 dias (Figura 2).



Figura 2. A verificação do efeito residual protetor do óleo essencial de capim limão em escala laboratorial. As sementes são revestidas e armazenadas e o efeito residual protetor avaliado em diferentes tempos de armazenamento, com base no ciclo reprodutivo do inseto. Também, verifica-se a presença de resíduos químicos do óleo essencial na superfície das sementes após diferentes tempos de armazenamento.

Também, verificou-se o efeito inibitório *in vitro* do óleo essencial de capim-limão sobre os fungos *Fusarium* spp., *Colletrochium* spp., *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. Estes fungos são comumente encontrados em sementes e grãos armazenados e em condições inadequadas de armazenamento podem se disseminar, provocar mofo ou bolores e no caso de sementes, prejudicar a formação de plântulas saudáveis. Também foi avaliado se o óleo essencial apresenta qualquer efeito sobre a emergência (germinação em areia) e o desenvolvimento de plântulas de feijão (*Vigna unguiculata*), previamente revestidas com o óleo essencial de capim limão.

2 | METODOLOGIA

2.1 Obtenção do óleo essencial

O óleo essencial da espécie *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. (Poaceae) foi extraído a partir de folhas secas por hidrodestilação em processo contínuo com aparelho de Clevenger. O óleo essencial foi separado por diferença de fase e seco com sulfato de sódio anidro. Foram realizadas sucessivas extrações, nas mesmas condições, até a obtenção de aproximadamente 20 mL de óleo essencial. Para conservação do óleo essencial ele foi acondicionado em frasco âmbar, protegido da luz e umidade, hermeticamente fechado, conservados em freezer -20°C até o momento de seu uso.

2.2 Análise química do óleo essencial

A análise foi realizada em um CG Hewlett-Packard 5890 II (Palo Alto, EUA) equipado com um detector de ionização de chama (DIC), e um injetor split/splitless com relação de separação de 1:20 com o objetivo de separar as substâncias do óleo essencial e quantificá-las. As substâncias foram separadas numa coluna capilar de sílica fundida com 5% difenil e 95% dimetilpolisiloxano (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm). As temperaturas do forno, injetor e detector foram programadas conforme relatado por ADAMS (2007). O gás transportador utilizado foi He (1 mL / min). O volume injetado foi de 1 μl a uma razão de divisão de 1:20. A porcentagem de compostos de óleo essencial foi calculada a partir da área relativa de cada pico analisado pelo FID. A caracterização química foi realizada em um CG acoplado a um espectrômetro de massas, modelo QP-2010 Plus (Shimadzu, Japão). O fluxo de gás de arraste, a coluna capilar e as condições de temperatura para a análise de CG/EM foram os mesmos descritos para CG/DIC e relatados por ADAMS (2007). As condições operacionais do espectrômetro de massa foram: tensão de ionização de 70 eV, faixa de massa de 40-400 m/z e 0,5 de varredura/s. Os índices de retenção dos compostos foram calculados com base na co-injeção de amostras com uma mistura de hidrocarbonetos C8-C20, conforme relatado por VAN DEN DOOL; DEC. KRATZ

(1963). Constituintes foram identificados por comparação de seus espectros de massa com a biblioteca (NIST, 2008) e com aqueles relatados por ADAMS (2007).

2.3 Revestimento da semente com óleo essencial

Foi preparado 25 mL de solução de óleo essencial diluídos em etanol a 0,1%. A solução foi utilizada para revestir 30 g de sementes de feijão-caupi (aproximadamente 150 sementes). O modo operacional para o revestimento foi de batelada, sob pressão negativa até o esgotamento do solvente. O mesmo procedimento foi realizado para o controle, que não recebeu o óleo essencial de capim-limão. As sementes revestidas foram armazenadas em frascos de vidro com tampa em câmara a 7° C ($\pm 1^\circ$ C) protegido da luz e umidade, e o efeito residual protetor do óleo essencial foi observado em quatro tempos diferentes, por: 7, 30, 90 e 180 dias de armazenamento.

2.4 Ensaio Biológico contra o inseto *C. maculatus*

Tubos de 50 mL contendo 30 grãos de feijão-caupi revestidos com óleo essencial ou não (controle) e 10 insetos saudáveis com dois dias de idade (1:1 fêmea/macho) foram utilizados como unidade experimental, com cinco repetições para cada tratamento. Os tubos foram então fechados e armazenados em uma câmara a 27° C ($\pm 1^\circ$ C) e umidade relativa de 65% ($\pm 5\%$). A mortalidade e a postura de ovos foram registradas 48h após a iniciado o teste, em seguida, as tampas foram removidas e substituídas por uma tela fina e a emergência de novos adultos foi avaliada após 27 dias. O teste foi realizado duas vezes sob as mesmas condições.

2.5 Análise química do revestimento na semente

As amostras de sementes previamente revestidas e estocadas por 30, 90 e 180 dias foram lavadas com 5 mL de diclorometano, em duplicata, em seguida, a solução foi reduzida a 1 mL sob fluxo constante de N₂ gasoso. Por fim, uma alíquota de 1,0 μ L da solução foi injetada em um CG Hewlett-Packard 5890 II (Palo Alto, EUA) equipado com um detector de ionização de chama (DIC) e em um CG acoplado a um espectrômetro de massas, modelo QP-2010 Plus (Shimadzu, Japão). O fluxo de gás de arraste, a coluna capilar e as condições de temperatura para a análise de CG/EM e CG/DIC, assim como a identificação das substâncias, foram as mesmas descritas na Análise química do óleo essencial. Foi injetado, nas mesmas condições descritas anteriormente, 1 μ l de solução de neral e geranial nas concentrações de 4,0; 0,4 e 0,04 e 6,0; 0,6 e 0,06 μ L/mL, respectivamente como padrão externo para aferição da concentração de neral e geranial no resíduo.

2.6 Inibição do crescimento fúngico – teste de diluição em meio BDA

O óleo essencial de capim-limão foi diluído em Dimetilsulfóxido (DMSO) e

misturado ao meio de cultura Batata-dextrose-agar (BDA), produzindo concentração de 2,0 $\mu\text{L/mL}$ de BDA. Como controle (+) utilizou-se o fungicida Folicur (0,08 $\mu\text{L/ml}$) e como controle (-) somente Dimetilsulfóxido (DMSO, 12 $\mu\text{L/ml}$) e somente BDA (testemunha). Em seguida, os meios de culturas foram vertidos para as placas de Petri, no centro delas inoculados os fungos *Fusarium* spp., *Colletrochium* spp, *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp, por fim, incubados por 48 horas à 26° C. Após 48 horas, as placas foram digitalizadas, e o halo fúngico transformado em área com auxílio do Software ImageJ 1.49v (RUEDEN, C.; DIETZ, C.; HORN, M.; SCHINDELIN, J.; NORTHAN, B.; BERTHOLD, M.; ELICEIRI, 2016) e convertido para (%) inibição do crescimento.

2.7 Germinação de feijão-caupi – teste de emergência em areia

Sementes orgânicas de feijão-caupi da variedade Guariba foram adquiridas na PESAGRO, Seropédica-RJ e revestidas com óleo essencial de capim limão, conforme descrito anteriormente. O mesmo procedimento foi realizado para o controle, que não recebeu o óleo essencial de capim-limão. Depois, as sementes foram transferidas para substrato areia e condicionadas em ambiente controlado \pm 25 °C e a germinação avaliada conforme descrito na literatura (BRASIL, 2009).

2.8 Estatística

Os dados para mortalidade foram corrigidos segundo (ABBOTT, 1925) com base no controle da mortalidade. As porcentagens para postura de ovos (oviposição) e emergência de novos adultos foram calculadas pela seguinte fórmula: $P = T \times 100 / C$, onde P, T e C são a porcentagem, a média registrada no grupo tratamento e média registrada no grupo controle, respectivamente. Os demais dados apresentados foram expressos como médias aritméticas \pm erro padrão, submetidos à ANOVA, as diferenças entre as médias determinadas utilizando o teste de Tukey (5%).

3 | RESULTADO E DISCUSSÃO

Apenas para efeito de relato o rendimento do óleo essencial foi de 1,2% (m/m). As características organolépticas do óleo são descritas como: cor amarelo ouro, odor forte e cítrico, densidade entorno de 0,89 g/cm^3 . A análise química do óleo essencial revelou um perfil rico nos isômeros neral (34%) e geranial (47%), muito semelhante a outras descrições na literatura (ANDRADE; ZOGHBI; LIMA, 2009; PINTO *et al.*, 2015). As substâncias mirceno (12%), (*Z*)-isocitral (1%) e (*E*)-isocitral (2%) também foram encontradas no óleo essencial (Figura 3). Diferenças no perfil químico dos óleos essenciais dentro das espécies podem ser explicadas com base no polimorfismo químico, fatores ambientais, nutricionais e interações ecológicas (CHENG *et al.*, 2007; MAFFEI; GERTSCH; APPENDINO, 2011; SANGWAN *et al.*, 2001).

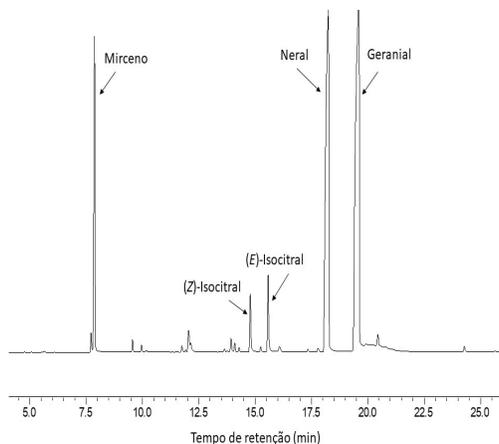


Figura 3. Cromatograma de íons totais (TIC) do óleo essencial de *Cymbopogon citratus*. As substâncias foram separadas em coluna capilar de sílica fundida com 5% difenil e 95% dimetilpolisiloxano (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm).

A avaliação do efeito protetor do revestimento de óleo essencial de capim limão permitiu observar diminuição na mortalidade dos insetos em função do tempo de armazenamento das sementes revestidas, sendo que aos 180 dias o revestimento provocou uma baixa mortalidade aos insetos praga. Também, verificou-se redução na postura de ovos aos 7 dias de armazenamento, e com menor efeito ao 30 e 90 dias de armazenamento, assim como, redução no surgimento de novos adultos até os 90 dias de armazenamento das sementes revestidas com óleo essencial de capim limão (Figura 4). A avaliação do tempo de proteção das sementes após o revestimento tem sido verificada por outros autores como essencial para validar a eficácia da técnica, e os tempos de proteção tem sido diferente, de acordo com o produto natural e os insetos testados (ILBOUDO *et al.*, 2010; KETOH *et al.*, 2005).

A análise química do resíduo obtido após lavagem das sementes revestidas com de óleo essencial de capim-limão revelaram a presença de neral e geranial (citral), exceto nas sementes estocadas por 180 dias. Foi possível verificar a diminuição do resíduo de neral e geranial nas sementes com o aumento do tempo de armazenamento (Figura 5a). Provavelmente a diminuição destas substâncias revestindo as sementes de feijão está relacionado à diminuição da atividade tóxica do revestimento sobre o ciclo reprodutivo do caruncho.

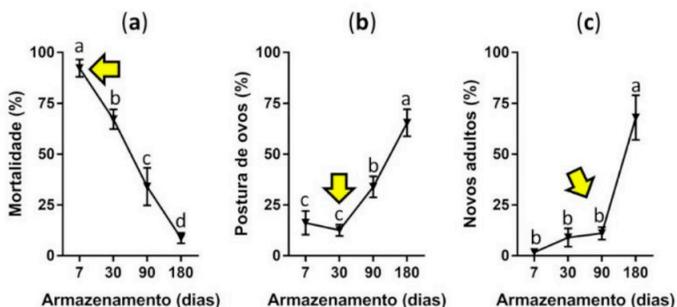


Figura 4. Avaliação do ciclo reprodutivo do caruncho incubado com sementes previamente revestidas com óleo essencial de capim limão e armazenadas por 7, 30, 90 e 180 dias. As setas indicam os melhores resultados em função do tempo de estocagem das sementes. As barras representam o erro padrão entorno das médias. Letras diferentes representam diferença significativa pelo teste Tukey (5%).

O óleo essencial de capim-limão inibiu o crescimento do halo dos fungos *Fusarium* spp., *Colletrochium* spp, *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp (Figura 5b). Este resultado contribui para a ampliação do efeito protetor do óleo essencial de capim limão, como já observados por outros autores. Além disso, óleo essencial de capim-limão não promoveu inibição significativa da germinação das sementes de feijão-caupi, que é uma excelente informação quando se busca o tratamento de sementes comerciais.

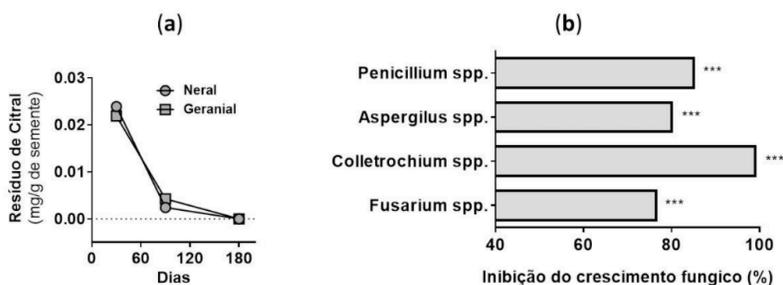


Figura 5. Resíduo de neral e geranial (mg/g) encontrados revestindo as sementes de feijão-caupi após 30, 90 e 180 dias de armazenamento (a). Inibição (%) do crescimento dos fungos *Fusarium* spp., *Colletrochium* spp, *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. (b). *** significativo segundo o teste Tukey (5%, $p < 0,001$) em comparação ao controle com DMSO. Todos os fungos submetidos ao controle positivo (Folicur) apresentaram 100% de inibição.

4 | CONCLUSÕES

Somando os resultados do efeito inibitório sobre o ciclo reprodutivo do *C. maculatus*, o crescimento dos fungos e a constatação que o método para aplicação do revestimento com óleo essencial de capim limão não apresentaram efeito negativo sobre a germinação, conclui-se que o óleo essencial de capim-limão apresenta enorme potencial para o uso como produto natural destinado a proteção de grãos e sementes de feijão contra insetos praga e fungos de armazenamento.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W. S. A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. **Journal of Economic Entomology**, [S. l.], v. 18, n. 2, p. 265–267, 1925. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>
- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. 4. ed. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 2007. *E-book*.
- ADORJAN, B.; BUCHBAUER, G. Biological properties of essential oils: an updated review. **Flavour and Fragrance Journal**, [S. l.], v. 25, n. 6, p. 407–426, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ffj.2024>
- AL NAGGAR, Y. *et al.* Organophosphorus insecticides in honey, pollen and bees (*Apis mellifera* L.) and their potential hazard to bee colonies in Egypt. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 114, p. 1–8, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.12.039>
- ALVES, M. de S. *et al.* Efficacy of lemongrass essential oil and citral in controlling *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae), a post-harvest cowpea insect pest. **Crop Protection**, [S. l.], v. 119, p. 191–196, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.02.007>. Acesso em: 30 abr. 2019.
- ANDRADE, E. H. A.; ZOGHBI, M. das G. B.; LIMA, M. da P. Chemical Composition of the Essential Oils of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf Cultivated in North of Brazil. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, [S. l.], v. 12, n. 1, p. 41–45, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/0972060X.2009.10643689>. Acesso em: 18 out. 2014.
- BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009. *E-book*. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise__sementes.pdf. Acesso em: 10 maio. 2019.
- CHENG, A.-X. *et al.* Plant Terpenoids: Biosynthesis and Ecological Functions. **Journal of Integrative Plant Biology**, [S. l.], v. 49, n. 2, p. 179–186, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2007.00395.x>
- DUTRA, R. M. S.; SOUZA, M. M. O. de. CERRADO, REVOLUÇÃO VERDE E EVOLUÇÃO DO CONSUMO DE AGROTÓXICOS. **Sociedade & Natureza**, [S. l.], v. 29, n. 3, p. 473–488, 2017.
- EHLERS, E. **O que é agricultura sustentável**. [S. l.]: Brasiliense, 2017. *E-book*.

HADDAD, C. *et al.* AGROTÓXICOS NO BRASIL: uma violação aos direitos fundamentais. **Jornal Eletrônico das Faculdades Integradas Vianna Júnior**, [S. l.], v. 11, n. 1, p. 1–19, 2019.

ILBOUDO, Z. *et al.* Biological activity and persistence of four essential oils towards the main pest of stored cowpeas, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, [S. l.], v. 46, n. 2, p. 124–128, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2009.12.002>

ISO-9235. **ISO, International Standard 9235: 2013 Aromatic natural raw materials—vocabulary**. [S. l.], 2013. Disponível em: http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=51017. Acesso em: 31 mar. 2015.

KETOH, G. K. *et al.* Essential oils residual effects on *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) survival and female reproduction and cowpea seed germination. **International Journal of Tropical Insect Science**, [S. l.], v. 25, n. 02, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1079/IJT200565>

KIM, K.-H.; KABIR, E.; JAHAN, S. A. Exposure to pesticides and the associated human health effects. **Science of The Total Environment**, [S. l.], v. 575, p. 525–535, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.009>

MAFFEI, M. E.; GERTSCH, J.; APPENDINO, G. Plant volatiles: Production, function and pharmacology. **Natural Product Reports**, [S. l.], v. 28, n. 8, p. 1359, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c1np00021g>

MAHMOOD, I. *et al.* Effects of Pesticides on Environment. In: **Plant, Soil and Microbes**. Cham: Springer International Publishing, 2016. p. 253–269. *E-book*. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-319-27455-3_13

MOSMANN, M. P.; ALBUQUERQUE, L.; BARBIERI, I. B. Agrotóxicos e direito humanos no contexto global: o Brasil em risco de retrocesso? **Revista de Direito Internacional**, [S. l.], v. 16, n. 2, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.5102/rdi.v16i2.6107>

NIST. **National Institute of Standards and Technology. Mass Spectral Library (NIST/EPA/NIH)**. [S. l.]: [NIST 08] National Institute of Standards and Technology. “Mass Spectral Library (NIST/EPA/NIH).” (2008)., 2008.

NUNES, F. J.; DIAS, F. P. M.; SILVA, R. F. da. A REVOLUÇÃO VERDE E SEUS IMPACTOS NA SAÚDE HUMANA COM A MODERNIZAÇÃO DA AGRICULTURA. **Revista Revise**, [S. l.], v. 3, p. 1–3, 2018.

PINTO, Z. T. *et al.* Chemical composition and insecticidal activity of *Cymbopogon citratus* essential oil from Cuba and Brazil against housefly. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, [S. l.], v. 24, n. 1, p. 36–44, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1984-29612015006>

REGNAULT-ROGER, C.; VINCENT, C.; ARNASON, J. T. Essential Oils in Insect Control: Low-Risk Products in a High-Stakes World. **Annual Review of Entomology**, [S. l.], v. 57, n. 1, p. 405–424, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120710-100554>. Acesso em: 4 dez. 2014.

RUEDEN, C.; DIETZ, C.; HORN, M.; SCHINDELIN, J.; NORTHAN, B.; BERTHOLD, M.; ELICEIRI, K. **ImageJ Ops**. [S. l.], 2016. Disponível em: <http://imagej.net/Ops>. Acesso em: 10 maio. 2019.

SANGWAN, N. S. *et al.* Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, [S. l.], v. 34, n. 1, p. 3–21, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/A:1013386921596>. Acesso em: 16 set. 2014.

SERRA, L. S. *et al.* Revolução Verde: reflexões acerca da questão dos agrotóxicos. **Revista Científica do Centro de Estudos em Desenvolvimento Sustentável da UNDB**, [S. l.], v. 1, n. 4, p. 1–25, 2016.

VAN DEN DOOL, H.; DEC. KRATZ, P. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], v. 11, p. 463–471, 1963. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)80947-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)80947-X)

WAGNER, N. *et al.* Evaluating the risk of pesticide exposure for amphibian species listed in Annex II of the European Union Habitats Directive. **Biological Conservation**, [S. l.], v. 176, p. 64–70, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.05.014>. Acesso em: 21 jan. 2015.

WEZEL, A. *et al.* Agroecological practices for sustainable agriculture. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, [S. l.], v. 34, n. 1, p. 1–20, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13593-013-0180-7>

OPTIMIZATION SYNTHESIS OF BIODIESEL FROM MACAUBA OIL (*ACROCOMIA ACULEATA*) USING EXPERIMENTAL DESIGN TECHNIQUE

Data de aceite: 01/09/2020

Data de submissão: 19/08/2020

Michelle Budke Costa

Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Medianeira-PR
<http://lattes.cnpq.br/8752647892614261>

Maikon Aparecido Schulz dos Santos

Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Medianeira-PR
<http://lattes.cnpq.br/2138955298063724>

Eduardo Eynng

Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Medianeira-PR
<http://lattes.cnpq.br/1101075438495044>

Juliana Cortez

Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Cornélio Procópio-PR
<http://lattes.cnpq.br/9521479418175418>

Daniel Walker Tondo

Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Medianeira-PR
<http://lattes.cnpq.br/7121442162301693>

Laercio Mantovani Frare

Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Medianeira-PR
<http://lattes.cnpq.br/7676033878331606>

Melissa Budke Rodrigues

Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Medianeira-PR
<http://lattes.cnpq.br/5087148127700008>

ABSTRACT: This study aimed to evaluate the synthesis of methyl esters, having as raw material macauba almond oil (*Acrocomia aculeata mart.*) from the transesterification reaction using p-toluenesulfonic acid as catalyst. The planning conducted for the transesterification trials was the Rotatable Central Composite Design, with a factor 2^2 , which originated the experimental mathematical model. The evaluation of the content of methyl esters was performed by thermogravimetry, and the best condition found for the percentage yield of methyl esters was obtained employing 11,5% catalyst, molar ratio of oil: methanol 1:6, 65°C temperature, 200 rpm stirring and reaction time of 4.25 hours, achieving a yield of 99%. From the generated mathematical model was demonstrated the validity of the experimental conditions.

KEYWORDS: Biofuel, Oil Macaúba almond, Transesterification, Thermogravimetry, Mathematical Model.

RESUMO: Este estudo teve como objetivo avaliar a síntese de ésteres metílicos, tendo como matéria-prima o óleo da amêndoa de macaúba (*Acrocomia aculeata mart.*), a partir da reação de transesterificação empregando o ácido p-toluenossulfônico. O planejamento realizado para os ensaios de transesterificação foi o Delineamento do Composto Central com fatorial de 2^2 sendo a avaliação do teor de ésteres metílicos obtida por termogravimetria. A melhor condição encontrada foi obtida empregando-se 11,5% de catalisador, razão molar óleo:metanol de 1:6, temperatura 65 °C, agitação de 200 rpm e tempo de reação de 4,25 horas, obtendo-se um

rendimento de 99%. A partir do modelo matemático gerado, foi comprovada a validade deste para as condições experimentais.

PALAVRAS-CHAVE: Biocombustível, Óleo da Amêndoa de Macaúba, Transesterificação, Termogravimetria, Modelo Matemático.

1 | INTRODUCTION

World politics has given relevance to new technologies that work together to build an ecologically sustainable and less polluted world. Due to limited oil reserves and the consequent increase in oil prices, renewable energy sources, biofuel, has been the subject of intense investigations¹⁻⁵.

A major advantage of the use of renewable energy sources (particularly those of vegetable origin) is in the fact of producing less polluting compounds^{6,7} and lower environmental impact in their burning processes, besides being part of the carbon mass naturally processed by plants.

Among the main renewable fuels stand out ethanol, vegetable oils and biodiesel⁸. The use of vegetable oils for biodiesel production, from the transesterification process has been object of recent research, attracting huge worldwide attention as an alternative fuel. Thus, the exploitation of native oilseeds need specific research to their encompassing in the energy matrix in a sustainable way^{5,9,10}.

In this context, the fruit of macauba palm (*Acrocomia aculeata mart.*) appears as a promising raw material for obtaining vegetable oils, mainly due to their high oil content in the pulp (60% to 70% on a dry basis) and in the nuts (40% to 50% on a dry basis), besides its high productivity (about 6.5 tons of oil per hectare)¹¹⁻¹⁴ economically important species of palm tree found in the Brazilian state of Mato Grosso do Sul. In this work, the general physicochemical characteristics and fatty acid composition of the fruit (boca\u00fava. It features wide dispersion in Brazil and neighboring countries such as Colombia, Bolivia and Paraguay. In Brazil, this palm is native in Minas Gerais, Ceará, Mato Grosso and Mato Grosso do Sul, being more abundant in the Cerrado region, where their exploitation is carried out in an extractive way, taking advantage of the occurrence of large populations in these regions¹⁴.

There are several studies on the use of macauba as raw material in the manufacture of oil for food purposes, the manufacture of soaps and burning for lighting and heating purposes. This palmácea excels in producing biodiesel for its oil production potential per unit area, adaptation (benefiting disadvantaged regions to commercial agriculture), plus the ability to use in agrossilvipastoris systems and viability in small plantations or associated with familiar agriculture^{15,16}.

The main way to obtain biodiesel is via transesterification reaction between a triglyceride, from vegetable oil, alcohol and a catalyst under appropriate conditions

of temperature and agitation. The reaction is processed in the presence of a catalyst and generates methyl/ethyl esters (biodiesel) and glycerol by-product, commonly called glycerin¹⁷⁻¹⁹.

Currently, the production of biodiesel is performed by transesterification of vegetable oil triglycerides using methanol and an alkali catalyst, usually NaOH or KOH²⁰⁻²² alkaline bases are used to catalyze the reaction. These catalysts require anhydrous conditions and feedstocks with low levels of free fatty acids (FFAs). The reaction is usually carried out at 60-80 °C and the glycerol and methyl ester are separated by sedimentation after neutralization of the catalyst^{23,24}.

The catalysts used are given special attention for its potential reduction of time and production costs, besides direct influence in the final product purity level²⁵⁻²⁷. In this context, p-toluenesulfonic acid (APTS) is a strong non-oxidizing acid having desirable characteristics for use as catalyst in transesterification processes. Due to peculiar features, this catalyst has highlighted as a catalyst in organic reactions. However, few studies in the literature report the utilization of APTS as catalyst for transesterification²⁸⁻³⁰. The research employing the APTS use a product with high purity. Sulfonac ATS 95 (p-toluenesulfonic acid 95%) is a product marketed in Brazil having wide applicability as catalyst in industrial processes. Its cost is about 3 to 4% of the p-toluenesulfonic acid 98% commercialized for chemical companies.

Within this context, the aim of this study is to evaluate the synthesis of methyl esters derived from macauba almond oil from the transesterification reaction employing the Sulfonac ATS 95 (p-toluenesulfonic acid) as a catalyst.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 Materials and Reagents

The macauba almond oil was purchased from Cooperativa Central do Cerrado. The used catalyst, p-toluenesulfonic acid 95% (Sulfonac ATS 95), was supplied by Sisterquímica S/A. Methyl alcohol 99.8% was obtained from Alphatec. All reagents were utilized without previous physical-chemical treatment.

2.2 Transesterification Reaction of oil

On a 250 mL volumetric flask attached to a reflux condenser, 10g of oil was added until reaching the reaction temperature (65°C). The catalyst solution and methyl alcohol was separately prepared and added to the preheated oil. The computation time started with the sealing of the balloon and initiation of constant stirring (200 rpm). The amounts of catalyst and reaction time employees obeyed the predetermined experimental design. After the reaction period, the flask contents were transferred to a separatory funnel. The bottom layer containing glycerol and

impurities was drained. The top layer underwent a washing process using 40 mL (2 x 20 mL) of distilled water at 50°C. Subsequent to washing, the samples were heated for 30 minutes to remove any traces of water and methanol. The samples obtained in this process were stored in amber vials at room temperature (25°C).

2.3 Analytical Methodology

2.3.1 Analysis of fatty acid methyl esters

For determination of the fatty acid methyl esters profile, the lipids were by Hartman and Lago method (1973). The fatty acid methyl esters were analyzed on gas chromatograph (Perkin Elmer 680, USA) equipped with a flame ionization detector (FID) and fused silica capillary column (30 m x 0.25 mm x 0.25 μ m, Elite Wax, Varian). The column temperature was programmed to started with 65 °C, heating rate 15°C min⁻¹ up to 170°C, followed by heating rate 6°C min⁻¹ up 220°C. The sample split ratio used was 50:1 and sample volumes of 1 mL were injected. Ultrapure helium (White Martins), 1.30 mL min⁻¹, was used. The detector and injector temperatures were maintained at 220 °C and 230 °C, respectively. The fatty acids were identified by comparison of the retention times with those of fatty acid methyl ester standard (Supelco 23, Sigma–Aldrich).

2.3.2 Characterization of the almond oil and methyl ester

Macauba almond oil was characterized by acidity index (AOCS, 1998³⁰), peroxide index (AOCS, 1998³⁰), iodine index (AOCS, 1997³²), humidity (AOCS, 1997³²), density and viscosity measurements. Viscosity measurements were obtained using a basic rheometer (Brookfield DV-III) at 25° C temperature with rotational speed 100 rpm. The density was calculated using a 25mL pycnometer at 20 ° C temperature.

The amount of methyl esters present in transesterified samples of macauba almond oil was estimated using thermogravimetric analysis performed on a PerkinElmer thermo analyzer, model STA 6000, expressed as a weight loss percentage. The employed experimental condition for thermogravimetric analysis was heating about 6 mg of sample from 50°C to 600°C, with 10°C min⁻¹ heating rate in nitrogen atmosphere with a flow of 20 mL min⁻¹ using a platinum sampler.

Furthermore, the functional groups of biodiesel samples were investigated using absorption spectroscopy in the infrared - FTIR, acting in the range between 4000 cm⁻¹ and 400 cm⁻¹ with resolution of 2 cm⁻¹ and number of accumulations of 16 spectra. A FTIR Perkin Spectrum100 spectrophotometer was used in order to obtain the spectrum samples in attenuated total reflectance UATR mode.

2.4 Experimental Planning

A Rotatable Central Composite Design (RCCD) was used, based on Response Surface Methodology. The independent variables were the concentration of APTS and time. The dependent variable was the concentration of methyl esters defined by thermogravimetric analysis.

For the RCCD experimental design 2^2 factorial trials were performed with 5 repetitions at the central point and 4 trials in the axial points, totaling 13 trials. Statistical tests were performed by Statistic 7.0 statistical software, where the main effects of the factors and their interactions on the response variable were calculated. The molar ratio of oil:methanol 1:6, 65°C temperature and agitation of 200 rpm were set.

In Table 1, the conditions provided can be seen as well as the intervals of the study design variables. The choice of these experimental groups was based on results from preliminary tests.

	-1.41	-1	0	1	+1.41
Time (h)	1.59	2	3	4	4.41
Catalyst (%)	6.6	8	11.5	15	16.4

Table 1. Real values corresponding to the coded

A quadratic model was fitted to fatty acid methyl ester concentration (FAME) response due to the factors: reaction time and catalyst concentration, according to Equation 1.

$$CEM = \alpha_1 + \alpha_2 t^2 + \alpha_3 t + \alpha_4 C^2 + \alpha_5 C + \alpha_6 t.C \quad (\text{Equation 1})$$

Where:

FAME = Fatty Acid Methyl Ester (%);

α_i = Model regression coefficients.

t = Reaction time (encoded value, dimensionless).

C = Catalyst Concentration (encoded value, dimensionless).

3 | RESULTS AND DISCUSSION

A. Characterization of the almond oil

The values of acidity index, peroxide index, iodine index, humidity, density and viscosity are given in Table 2. These analyzes indicate that the oil used in this

study has suitable characteristics for biodiesel production. The acid index value was higher than expected, however, there are several factors that influence the oil acidity, such as how the harvest is done, ripening, storage and realization of fruit drying processes, as well as forms of oil extraction. Thus, these factors may explain the different values for the acid value reported in the literature.

Analysis	Value
Acidity index (mgKOH g ⁻¹)	3.9 ± 0.25
Peroxide index (meqK g ⁻¹)	5.9 ± 0.21
Iodine index (gI ₂ /100)	26.69 ± 1.48
Density (gm L ⁻¹)	0.91 ± 0.01
Humidity (%)	0.22 ± 0.01
Viscosity (cSt)	40.66 ± 1.29

Table 2 - Characterization of the macauba almond oil

The fatty acid methyl esters profile of macauba almond oil consists of unsaturated and saturated fatty acids. Oleic acid is predominant, about 38.59%, 43.49% of the total unsaturated fatty acids as can be seen in Table 3.

Retention (min)	Fatty acid (%)	MM	Value Found (%)
14.973	Lauric acid (C12:0)	200.32	27.9
19.423	Myristic acid (C14:0)	228.37	10.77
25.640	Palmitic acid (C16:0)	256.43	10.65
30.163	Stearic Acid (C18:0)	284.48	5.47
30.666	Oleic acid (C18:1n-9)	282.46	38.59
31.501	Linoleic acid (C18:2n-6)	288.44	4.12
	Outros		2.50

Table 3 - Fatty acid composition of macauba almond oil sample.

B. Thermogravimetric Analysis applied to biodiesel

The transesterification reactions of the macauba almond oil were performed using variable concentration of APTS and time, the molar ratio oil:methanol 1:6, 65°C temperature and constant stirring of 200 rpm defined using literature searches and preliminary testing. To set the response variable, concentration of methyl esters, thermogravimetric analysis was employed for the monitoring of transesterification reactions and observation of thermodegradation stages of biodiesel and oil ³¹.

Thus, based on thermodegradation temperature range for macauba almond oil and its methyl esters and in the identification of bands present in the thermogravimetric profile of the sample it was possible to determine the percentage conversion of the biodiesel produced.

In Table 4, it is possible to view the conditions provided by the experimental design for execution of the reactions as well as the percentage concentration of methyl esters, evaluated by thermogravimetric analysis (TGA).

Run	t (h)	C (%)	FAME (%)
1	4 (+1)	8 (-1)	91
2	2 (-1)	8 (-1)	80
3	4 (+1)	15 (+1)	98
4	2 (-1)	15 (+1)	93
5	3 (0)	11.5 (0)	94
6	3 (0)	11.5 (0)	93
7	3 (0)	11.5 (0)	94
8	3 (0)	11.5 (0)	95
9	3 (0)	11.5 (0)	93
10	4.25 (+1.41)	11.5 (0)	99
11	1.35 (-1.41)	11.5 (0)	88
12	3 (0)	16.4 (+1.41)	98
13	3 (0)	6.6 (-1.41)	79

Table 4. Results for the response variable, concentration of fatty acid methyl esters (FAME) for RCCD with a factor 2².

t: time; C: catalyst; FAME = Fatty acid methyl ester concentration;

It was found that the content of methyl esters had a variation of 79% to 99%, increasing with the increase in time and percentage of catalyst used in the testing and it was possible to achieve a minimum percentage of esters needed for the transesterified oil. Biodiesel can be considered, over 96.5%, as determined by the Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis - ANP, Brazil. ³².

The three best results (3, 10 and 12) ranged from 3 to 4.25h and 11.5 to 16.4% catalyst. It was observed that the amount of catalyst used was inversely proportional to the reaction time.

The best conditions found, where a transesterified ester content of 99% was obtained, was reached at an axial point, using 11.5% catalyst, 4.25 h reaction time, molar ratio oil:methanol 1:6, 200 rpm stirring and 65°C temperature.

Based on the levels of methyl esters obtained (93% to 95%) to the central points, trials 5 to 9 can confirm the repeatability of the tests.

The thermogravimetric profiles of macauba almond methyl biodiesel oil of tests 3, 10 and 13, where the highest and lowest yield were noted, along with the macauba almond oil are illustrated in Figure 1.

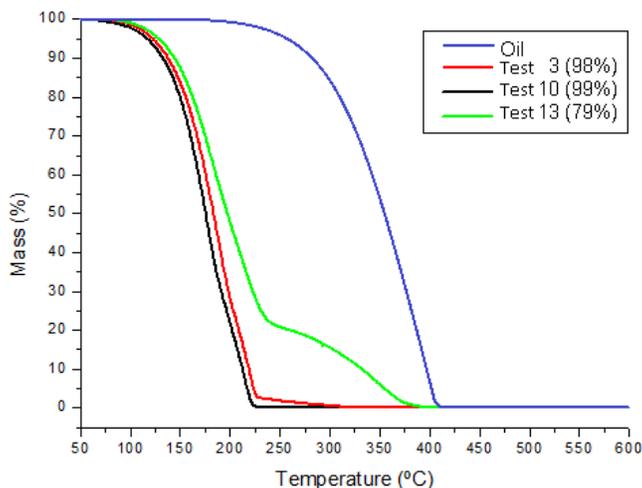


Figure 1. Thermogram of tests 3, 10 and 13.

For the analysis of the percentage of methyl esters obtained in the reaction was first performed the thermogravimetric profile of the oil, which showed a single degradation step (220 to 420°C), as can be seen in Figure 2. This parameter was used as a reference for other analyzes.

The curves for tests illustrate that biodiesel has two steps of volatilization. The larger mass losses thresholds that are observed until an approximate temperature of 225°C can be attributed to the methyl esters, the other step is associated with the carbonization of the sample.

In the spectrum of the methyl biodiesel of the macauba almond oil resulting from test 10 (Figure 2a), where the highest yield was obtained, absorption bands of the functional group C=O (carbonyl) can be verified, and an axial average absorption of the functional group C=O–C–O (ester) in the region of 1750 cm^{-1} to 1220 cm^{-1} respectively. The methylene groups $(\text{CH}_2)_n$ of the carbon chain of esters were confirmed by the bands in the region of 3000 cm^{-1} and 720 cm^{-1} .

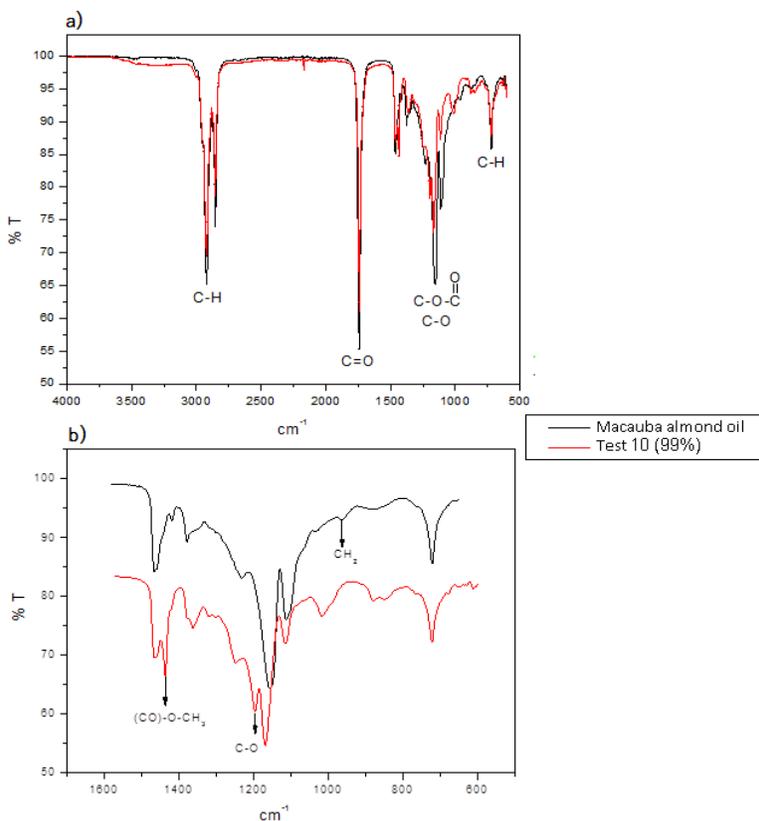


Figure 2. a) Infrared spectrum of biodiesel (99%) of test 10 and macauba almond oil. b) Absorption bands in region the 660 cm^{-1} to 1600 cm^{-1} .

Comparing the spectrum of the methyl esters of the test 10 with the macauba almond oil (Figure 2b), it was possible to observe differences in displacements and in the intensity of absorption bands in region the 660 cm^{-1} to 1600 cm^{-1} . In the region in 1168 cm^{-1} which identifies one of the major changes present in methyl esters, this band in the oil appears as a strong signal at 1159 cm^{-1} after transesterification this signal is divided into two on biodiesel, that they are visible in 1168 and 1195 cm^{-1} , the latter being equivalent to CO stretching band of an ester.

The region of 960 cm^{-1} was observed in the oil, which relates to symmetric vibration out of the plane of this in CH_2 triglyceride and the band in 1435 cm^{-1} in the biodiesel, which is related to deformation vibration of the methyl ester group.

C. Statistical Analysis and Validation of the Experimental Model

In Figure 3 is observed the Pareto diagram for the parameters studied. This

diagram allows you to check the effect of each parameter monitored, as well as which terms are statistically significant. Considering the 95% confidence interval, the quadratic term of the catalyst, the linear term of the catalyst and time, as well as the interaction between them, it was verified that were significant as the concentration of methyl esters.

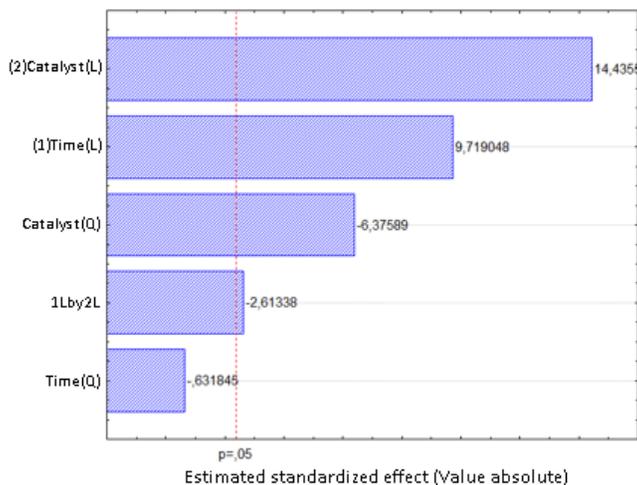


Figure 3. Pareto diagram for the yield content of esters, at a confidence level of 95%

Using the results obtained, the regression coefficients shown in Table 5 were calculated.

	Effects	Coefficients	Standard Error	p - value
Mean		93.8	0.5133	3.8824E-14
T	7.8890	3.9445	0.4058	2.5807E-05
I(t^2)	-0.55	-0.275	0.4352	0.5475
C	11.7175	5.8587	0.4058	1.8242E-06
I(C^2)	-5.55	-2.775	0.4352	0.0003
t:C	-3	-1.5	0.5739	0.0347

Table 5. Regression coefficients applied to the yield as a percentage of esters

t: time; C: catalyst

To perform the test of hypothesis (F test) and subsequent validation of the mathematical model is required to analyze the variance (ANOVA) for yield answer content of methyl esters, as can be seen in Table 6. This analysis model is the

most used to numerically evaluate the quality of the adjustment of a model, doing an analysis of waste. Despite the quadratic term of time not being significant in the range worked, it was decided to keep it in the mathematical model.

Source of Variation	Degrees of freedom	Sum of Squares	Mean Squares	F _{calculated}	F _{5; 7; 0.05} ^{tabulated}	p-value
Regression	5	461.699	92.340	70.013	3.972	7.9771E-06
Residual	7	9.224	1.318			
Total	12					

Table 6. Analysis of variance for the concentration-response esters (95% confidence interval)

According to Table 6 the value of F_{calculated} (70.013) is greater than F_{tabulated} (3.972) determining the validity of the model with 95% confidence, that can also be observed because the p-value is smaller than 0.05.

The quadratic model adjusted for the response Fatty Acid Methyl Ester Concentration (FAME) showed a coefficient of determination equal to 98.04%, confirming that the mathematical model satisfactorily explains the relation between the treatments used and observations.

From the model, it was possible to generate the surface response graphics and contour curves for the variable concentrations of methyl esters. In Figure 4 it is presented the response graphic in function of the variables time and percentage of catalyst.

The contour curves chart (Figure 5) shows a great region for the catalyst, approximately 0.1 to 1.2 in coded values, and a growing trend for the time, reaching 100% of the theoretical yield. However, in practice, because it is a reversible reaction, time values that exceed the range applied from 2 h to 4 h, can compromise the performance as a percentage of methyl esters.

The validation of the experimental model was performed under conditions of 0.3 (12.5%) for the catalyst and 1.2 (4.12h) for time in coded values. These conditions were established considering the optimal region provided by the surface response graph and contour curves, which propitiates values greater than those established by the Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis³³, in the matter of esters percentage, which is 96.5%, using reactants and the smallest possible power levels.

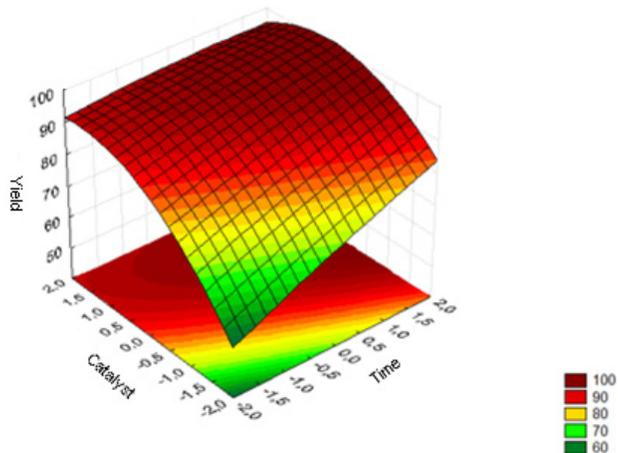


Figure 4. Surface response graph for the parameter concentration of esters in function of time and percentage of catalyst

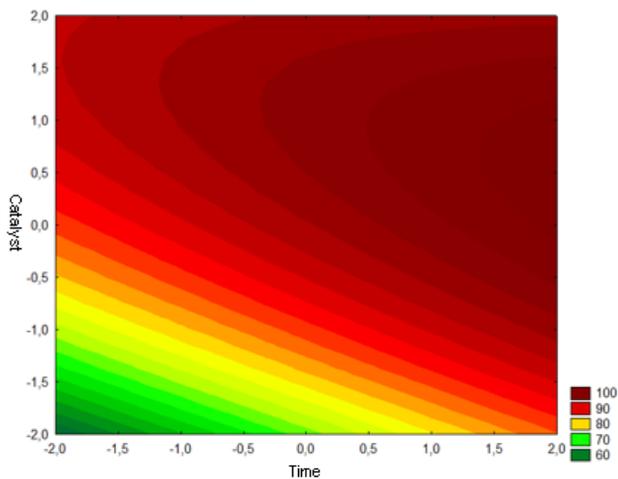


Figure 5. Graph contour curves for the concentration of esters parameter as a function of time and percentage of catalyst

Under such conditions, the value of the concentration of methyl esters predicted by the mathematical model was 99%. Thus, the model validated experimentally confirmed to obtain the esters, taking into account the optimal region obtained. In Table 7 there is the average of the concentrations achieved for validation tests.

Run	Time (h)	Catalyst (%)	FAME (%)
14	4.12 (1.2)	12.5 (0.3)	99
15	4.12 (1.2)	12.5 (0.3)	97
16	4.12 (1.2)	12.5 (0.3)	98
Mean			98

Table 7. Results of the validation of the experimental conditions, performed in triplicate, the temperature of 65°C, molar ratio oil:methanol 1:6 and 200 rpm stirring

In Figure 6, can be seen the thermogravimetric profiles of tests 14, 15 and 16, analyzed in an atmosphere of nitrogen.

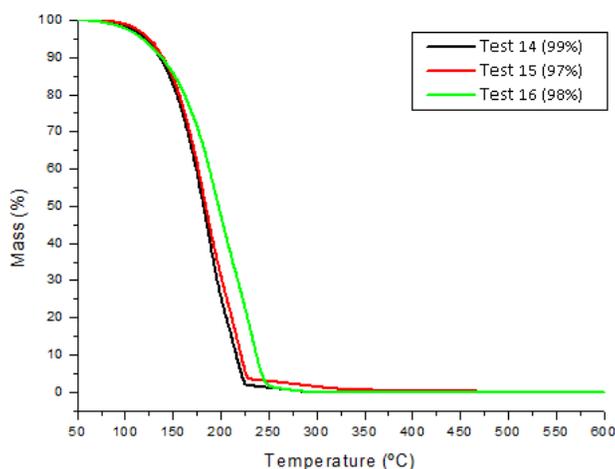


Figure 6. Thermogram of validation tests 39, 40 and 41 (C= 12.5%, R = 1:6 R and t = 4.12 h).

It can be seen that the concentration values of methyl esters found in validation tests ranged from 97% to 99%, which are very close values to the predicted by the model. Also, the average percentage error between the value predicted by the model for the selected condition and value observed in tests was validated by 1%, considered satisfactory value. Thus, it proved the validity of the mathematical model to the experimental conditions.

Because of the optimum range of weather conditions and catalyst percentage for the concentration of methyl esters above 96.5%, the analyzed conditions and reagents have great potential for industrial development, since small variations in the process do not result in major impacts on yield end.

A test was conducted without the presence of a catalyst employing the same

reaction conditions used in the test 10. However, it was not observed the formation of fatty acid methyl esters. The results obtained by some studies using macauba oil to obtain biodiesel are reported in Table 8. It is observed that the reaction conditions and catalysts employed have not exhibited superior results (except 37 reference employing more complex catalysts and higher amounts of solvent and temperature) that obtained with p-toluenesulfonic acid, which produced biodiesel with 99% FAME.

Catalyst (wt%)	Temperature (°C)	Time (min)	Oil:alcohol ratio	FAME (%)	Reference
Supercritical 15MPa	375	90	1:30 methanol (5wt% water)	78	34
Supercritical 15MPa	325	90	1:30 ethanol (5wt% water)	69.6	34
Sodium Methoxide (1)	Reflux	70	1:6 methanol	92.1	35
H ₂ SO ₄ (1.3)	113.9	120	1:10.3 ethanol	93.9	36
Nb ₂ O ₅ /SO ₄ (30)	250	240	1:120 ethanol	99.2	37
Supercritical 20MPa	325	45	1:50 methyl acetate	83	38
Enzyme CALB (6)	40% 5Hz (ultrasound)	30	1:6 methanol	93.3	39
Enzyme Novozym 435 (20)	65 ultrasound	30	1:9 ethanol	70	40
Enzyme Rhizomucor miehei (15.1)	40	480	1:3 ethanol	91	41

Table 8. Works using macauba oil for biodiesel production

The conditions employed in this work compared to other catalysts and systems employed in Table 8, it appears that the advantage of this process occur in a single step and cost of the catalyst (APTS 95 %) is very low, compared to the others catalysts.

Comparing this work to others that also used p-toluenesulfonic acid as catalyst, there is the lack of optimization studies applying this catalyst in transesterification reactions of vegetable oils to biodiesel production, furthermore all have employed APTS with high purity.

Reis *et al*²⁸ employed p-toluenesulfonic acid (homogeneous catalysis) in the esterification of free fatty acids as compared to A35 resin (heterogeneous catalysis), obtaining the best results for oleic and palmitic acids.

Encinar²⁹ diethyl ether (DEE, studied the application of p-toluenesulfonic acid in the pre-esterification of fats for later application basic catalysis. By applying just p-toluenesulfonic acid not obtained methyl ester yield.

It may be noted that the macauba almond oil has a great potential for biodiesel

production processes as well as the catalyst applied, p-toluenesulfonic acid 95%, in addition to even present a great economic viability because of its low cost of ownership compared to traditional catalysts applied as well as its pure compound.

4 | CONCLUSION

In the transesterification process of the macauba almond oil catalyzed by p-toluenesulfonic acid, the quantities were critical to high concentrations of methyl esters. For the applied planning, values equal or greater than 11.5% were needed for the yield, as the percentage of esters was higher than that required by the legislation of the Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis³³ to be considered biodiesel, which is 96.5%. Also, due to the acid character of the catalyst, it was found that reaction times of 2 hours are sufficient for the process to occur in its entirety.

Within the range applied in studying, the best condition found for the percentage yield of methyl esters was processed using 11.5% catalyst (p-toluenesulfonic acid) molar ratio oil:methanol 1:6, 65°C temperature, 200 rpm stirring and reaction time of 4.25 hours, achieving a yield of 99%;

Using the regression coefficients resulting of data of the experimental design, a mathematical model was generated. The validation of this was performed by means of an assay in triplicate, where it was observed an average percentage error of 1%, proving the validity of the mathematical model to the experimental conditions employed.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors acknowledge the financial support given by CAPES and CNPq.

REFERENCES

- 1 M. Guo, W. Song, and J. Buhain, *Renew. Sustain. Energy Rev.* **42**, 712 (2015).
- 2 Brasil, *Minist. Da Agric. Pecuária E Abast.* 36 (2014).
- 3 L.P. Ramos, *Rev. Biotecnol. Ciência E Desenvol.* **31**, 229 (2003).
- 4 C.A.G. Garcez and J.N. de S. Vianna, *Energy* **34**, 645 (2009).
- 5 G.P.A.G. Pousa, A.L.F. Santos, and P.A.Z. Suarez, *Energy Policy* **35**, 5393 (2007).
- 6 A.C. Pinto, C. Zucco, F. Galembeck, J.B. de Andrade, and P.C. Vieira, *B2 - Quim. Nov.* **35**, 2092 (2012).

- 7 A.C. Pinto, L.L.N. Guarieiro, M.J.C. Rezende, N.M. Ribeiro, E. a. Torres, W. a. Lopes, P. a P. De Pereira, and J.B. De Andrade, *J. Braz. Chem. Soc.* **16**, 1313 (2005).
- 8 G. Knothe, *Fuel Process. Technol.* **86**, 1059 (2005).
- 9 F. Ma and M.A. Hanna, *Bioresour. Technol.* **70**, 1 (1999).
- 10 T. Issariyakul and A.K. Dalai, *Renew. Sustain. Energy Rev.* **31**, 446 (2014).
- 11 P.A. Hiane, M.M.R. Filho, M.I.L. Ramos, and M.L.R. Macedo, *Brazilian J. Food Technol.* **8**, 256 (2005).
- 12 A.O. Scariot, E. Lleras, and J.D. Hay, *Biotropica* **27**, 168 (1995).
- 13 A. da S. César, F. de A. Almeida, R.P. de Souza, G.C. Silva, and A.E. Atabani, *Renew. Sustain. Energy Rev.* **49**, 1213 (2015).
- 14 R. Ferrari and J.D.A. Filho, *J. Agric. Sci. Technol.* **2**, 1119 (2012).
- 15 E.C.G. Aguiaras, E.D. Cavalcanti-Oliveira, A.M. De Castro, M. a P. Langone, and D.M.G. Freire, *Fuel* **135**, 315 (2014).
- 16 F. Amaral, F. Broetto, C.B. Batistella, and S.M.A. Jorge, *Energ. Na Agric.* **26**, 12 (2011).
- 17 G.F. Ghesti, J.L. de Macedo, I.S. Resck, J.A. Dias, and S.C.L. Dias, *Energy and Fuels* **21**, 2475 (2007).
- 18 J.M. Marchetti, V.U. Miguel, and a. F. Errazu, *Renew. Sustain. Energy Rev.* **11**, 1300 (2007).
- 19 F. Dimas, B. Apolinário, and J.P. Ferreira, *Rev. Divulg. Do Proj. Univ. Petrobras E IF Flum.* **141** (2012).
- 20 E. Lotero, Y. Liu, D.E. Lopez, K. Suwannakarn, D. a. Bruce, and J.G. Goodwin, *Ind. Eng. Chem. Res.* **44**, 5353 (2005).
- 21 F. Ma and M.A. Hanna, *Bioresour. Technol.* **70**, 1 (1999).
- 22 A.C. Pinto, L.L.N. Guarieiro, M.J.C. Rezende, N.M. Ribeiro, E.A. Torres, W.A. Lopes, and J.B. De Andrade, *J. Braz. Chem. Soc.* **16**, 1313 (2005).
- 23 M. Di Serio, R. Tesser, L. Pengmei, and E. Santacesaria, *Energy & Fuels* **22**, 207 (2008).
- 24 Y.C. Sharma, B. Singh, and S.N. Upadhyay, *Fuel* **87**, 2355 (2008).
- 25 P. Lozano, *Green Chem.* **12**, 555 (2010).
- 26 M.J. Haas, *Fuel Process. Technol.* **86**, 1087 (2005).

- 27 R.B. Silva, A.F. Lima Neto, L.S.S. Santos, J.R. de O. Lima, M.H. Chaves, J.R. Santos, G.M. Lima, E.M. de Moura, and C.V.R. de Moura, *Bioresour. Technol.* **99**, 6793 (2008).
- 28 M.C. Reis, F.A. Freitas, E.R. Lachter, R.A.S.S. Gil, R.S.V. Nascimento, R.L. Poubel, and L. B.Borré, *Quim. Nova* **38(10)**, 1307 (2015).
- 29 J.M. Encinar, A. Pardal, and N. Sánchez, *Fuel* **166**, 51 (2016).
- 30 G. Guan, K. Kusakabe, N. Sakurai, and K. Moriyama, *Fuel* **88**, 81 (2009).
- 31 P. Chand, C.V. Reddy, J.G. Venkat, T. Wang, and D. Grewell, *Energy and Fuels* **23**, 989 (2009).
- 32 G.N. e B. Agência Natural do Petróleo, *Resolução ANP No 45, de 25.8.2014* (n.d.).
- 33 ANP, Agência Nac. Do Petróleo, Gás Nat. E Biocombustíveis (2014).
- 34 H.J. Navarro-Díaz, S.L. Gonzalez, B. Irigaray, I. Vieitez, I. Jachmanián, H. Hense, and J.V. Oliveira, *J. Supercrit. Fluids* **93**, 130 (2014).
- 35 L.N. Silva, C.C. Cardoso, and V.M.D. Pasa, *Fuel* **166**, 453 (2016).
- 36 G.K. Souza, F.B. Scheufele, T.L.B. Pasa, P.A. Arroyo, and N.C. Pereira, *Fuel* **165**, 360 (2016).
- 37 L.R. V da Conceição, L.M. Carneiro, J.D. Rivaldi, and H.F. de Castro, *Ind. Crops Prod.* **89**, 416 (2016).
- 38 G. Doná, L. Cardozo-Filho, C. Silva, and F. Castilhos, *Fuel Process. Technol.* **106**, 605 (2013).
- 39 P. Adewale, M.-J. Dumont, and M. Ngadi, *Chem. Eng. J.* **284**, 158 (2016).
- 40 S. Michelin, F.M. Penha, M.M. Sychoski, R.P. Scherer, H. Treichel, A. Valério, M. Di Luccio, D. de Oliveira, and J.V. Oliveira, *Renew. Energy* **76**, 388 (2015).
- 41 E.C.G. Aguiaras, E.D. Cavalcanti-Oliveira, A.M. De Castro, M. a P. Langone, and D.M.G. Freire, *Fuel* **135**, 315 (2014).

PRÉ-TRATAMENTO ÁCIDO EM RAMAS DE MANDIOCA VISANDO PRODUÇÃO DE ETANOL SEGUNDA GERAÇÃO

Data de aceite: 01/09/2020

Data de submissão: 05/06/2020

Ana Luiza Alves Faria

Universidade Federal de Alfenas, Instituto de
Ciência e Tecnologia
Poços de Caldas - Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/1261471786703960>

Raphael Sarraf Martins Torraca

Universidade Federal de Alfenas, Instituto de
Ciência e Tecnologia
Poços de Caldas – Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/0191832632401266>

Emilia Savioli Lopes

Universidade Estadual de Campinas,
Departamento de Desenvolvimento de
Processos e Produtos
Campinas – São Paulo
<http://lattes.cnpq.br/1846162226938893>

Jaqueline Costa Martins

Universidade Federal de Alfenas, Instituto de
Ciência e Tecnologia
Poços de Caldas - Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/6833784075077342>

Milena Savioli Lopes

Pure and Applied Biochemistry, Department of
Chemistry, Lund University, Lund, Sweden
Campinas – São Paulo
<http://lattes.cnpq.br/3620289761856302>

Melina Savioli Lopes

Universidade Federal de Alfenas, Instituto de
Ciência e Tecnologia
Poços de Caldas - Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/0635740739677769>

RESUMO: A produção de etanol de segunda geração por meio da biomassa é uma fonte de energia relevante. Uma alternativa de biomassa é a folha de mandioca, geralmente descartada no seu cultivo. Este trabalho objetivou a análise do pré-tratamento ácido da folha de mandioca para a produção de etanol de segunda geração. Realizaram-se análises da concentração de açúcar redutor total após o pré-tratamento ácido com variáveis independentes de 5% a 20% em massa de carga de sólidos e 1% a 3% em massa de concentração de ácido sulfúrico. A análise estatística do resultado indicou que, para o intervalo de confiança de 95%, apenas a concentração de ácido e carga de sólidos linear são estatisticamente significativos. Além disso, a condição experimental otimizada pelo modelo para a máxima produção de ART foi de 3% de concentração de ácido e 20% de carga de sólido, determinada pela superfície de resposta gerada.

PALAVRAS - CHAVE: Pré-tratamento ácido, rama de mandioca, etanol segunda geração.

ACID PRE-TREATMENT IN CASSAVA BRANCHES AIMING TO PRODUCTION OF ETHANOL SECOND GENERATION

ABSTRACT: The production of second generation ethanol using biomass is a relevant source of energy. An alternative to biomass is the cassava leaf, usually discarded in its cultivation. This work aimed to analyze the acid pretreatment of cassava leaf for the production of second generation ethanol. Analyzes of the total reducing sugar concentration were carried out after acid pretreatment with independent variables of 5% to 20% by weight of solids loading and 1% to 3% by

weight of sulfuric acid concentration. The statistical analysis of the result indicated that, for the 95% confidence interval, only the acid concentration and linear solid charge are statistically significant. In addition, the experimental condition optimized by the model for maximum ART production was 3% acid concentration and 20% solid charge, determined by the response surface generated.

KEYWORDS: Acid pre-treatment, cassava branch, second generation ethanol.

1 | INTRODUÇÃO

Os biocombustíveis são combustíveis produzidos a partir da biomassa, isto é, a partir de recursos renováveis provindos de matérias orgânicas de origem animal ou vegetal. Dentre as biomassas utilizadas para sua produção, destacam-se a cana-de-açúcar, o milho, a soja, a semente de girassol, a madeira e a celulose. (Petrobras, 2009).

O biocombustível é considerado uma fonte de energia significativa por minimizar a dependência do petróleo na matriz energética devido à variação de seu custo, à redução da emissão de gases poluentes ao meio ambiente e também a questões socioeconômicas. Seus benefícios, aliados ao aumento da população, aumentaram a sua atratividade na procura por fonte de energia. (Hernández, 2008). Segundo o Ministério de Minas e Energia (2017), em 2016 houve a retração da oferta interna de energia de 7,3% das fontes não renováveis e crescimento de 10,1% de outras renováveis, parte composta por fonte renovável de energia.

Com o aumento da procura do biocombustível como fonte de energia, a demanda de álcool combustível vem aumentando, explicado pelo aumento interno do consumo de etanol pelos motores *flex-fuel*, crescimento das exportações brasileiras devido à mistura do álcool à gasolina e à rota de produção de biodiesel utilizando etanol na transesterificação dos óleos vegetais. (Cortez, 2010).

Uma opção para incrementar a produção de álcool combustível para atender a demanda é a sua produção por meio da conversão de biomassa em açúcares fermentescíveis. A biomassa é constituída principalmente por celulose, a qual forma uma matriz complexa denominada lignocelulósica. O etanol produzido a partir dessa matéria lignocelulósica é denominado etanol de segunda geração, ou seja, utilizam-se, como matérias-primas, resíduos agrícolas e florestais. (Galbe e Zacchi, 2005; Buckeridge *et al*, 2010). Como a biomassa lignocelulósica apresenta estrutura complexa, é necessário realizar um pré-tratamento ácido da amostra para posterior hidrólise dos polissacarídeos e fermentação em etanol. (Cortez, 2010).

Uma alternativa de matéria-prima para a produção de etanol de segunda geração é a mandioca, a qual possui raízes ricas em carboidratos não estruturais, destacando o amido, que pode ser utilizado como fonte de energia na produção de bioetanol. Em 2012, a China produziu 780 milhões de litros de bioetanol utilizando

como matéria-prima a mandioca e estima-se que a produção global de bioetanol em 2020 pode alcançar 155 bilhões de litros. ([Food and Agriculture Organization of the United Nations](#), 2013).

Porém, apenas as raízes da mandioca são utilizadas para a produção do etanol, sendo que as partes aéreas, muitas vezes, são descartadas após a colheita, resultando no desperdício de parte da produção de mandioca. (Fialho e Vieira, 2013).

O aproveitamento das folhas de mandioca pode ser uma alternativa para a produção de etanol de segunda geração, satisfazendo também o aumento da demanda do etanol nos últimos tempos. Este artigo tem como objetivo a análise do pré-tratamento ácido da folha de mandioca para a produção de etanol de segunda geração.

2 | METODOLOGIA

2.1 Planejamento experimental

O planejamento experimental utilizado foi o Delineamento Central Composto Rotacional (DCCR) com $\alpha = 1,41$, ou seja, um 2^2 com 4 ensaios nas condições axiais acrescidos de 3 ensaios nos pontos centrais. As variáveis independentes, utilizadas neste trabalho, foram a carga de sólidos e a concentração de ácido sulfúrico, com o intuito de analisar a concentração de açúcares redutores totais em solução.

As cargas de sólidos variaram de 5% a 20% em massa e a concentração de ácido sulfúrico de 1% a 3% em massa, mantendo constante o tempo em autoclave de 1 hora e a temperatura de 120°C a pressão de 1 Kgf/cm². Os valores utilizados no DCCR para o pré-tratamento ácido encontram-se na Tabela 1.

Variável Independente	-1,41	-1	0	+1	+1,41
Conc. De ácido sulfúrico (%)	1	1,3	2	2,7	3
Carga de sólido (g)	5	7,1967	12,5	17,8	20

Tabela 1 - Valores utilizados no DCCR para o pré-tratamento

Após o pré-tratamento, a fração sólida remanescente foi filtrada e a análise de ART foi feita no licor conforme Miller (1959).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

O pré-tratamento com ácido diluído promove a deslignificação e hidrólise da hemicelulose da matriz do vegetal, obtendo como produto uma fração líquida rica

em hemicelulose e fração sólida remanescente de carga de sólido composta por lignina e celulose não hidrolisada. Os resultados das absorvâncias e concentração dos açúcares redutores totais na fração líquida obtidos nos ensaios do planejamento experimental do pré-tratamento com ácido sulfúrico encontram-se na Tabela 2, juntamente com suas médias e desvio padrão.

Ensaio	Absorvância			Média Abs ± Desvio padrão	ART (g/l)
	1	2	3		
1	0,120	0,078	0,087	0,095 ± 0,022	19,349
2	0,178	0,166	0,157	0,167 ± 0,010	27,635
3	0,256	0,238	0,214	0,236 ± 0,021	35,552
4	0,396	0,384	0,399	0,393 ± 0,008	53,512
5	0,200	0,136	0,176	0,171 ± 0,033	28,030
6	0,218	0,230	0,234	0,227 ± 0,008	34,496
7	0,081	0,103	0,099	0,094 ± 0,011	19,286
8	0,375	0,315	0,313	0,334 ± 0,035	46,778
9	0,183	0,214	0,235	0,211 ± 0,026	32,625
10	0,177	0,199	0,261	0,213 ± 0,043	32,841
11	0,196	0,207	0,193	0,199 ± 0,008	31,237

Tabela 2 - Resultados experimentais do planejamento

A quantidade de açúcares redutores totais (ART) no líquido remanescente está relacionada com a eficiência do pré-tratamento, pois quanto maior a quantidade de ART liberada mais pré-tratada está a matéria prima. A condição experimental com maior liberação de ART (53,51 g/L) foi a de carga de sólidos de 17,8 % e concentração de ácido sulfúrico de 2,7%; enquanto que na condição onde utilizou-se 5% de carga de sólidos e 2% de concentração de ácido sulfúrico, foi obtido a menor concentração de ART (19,35 g/L).

A análise estatística do resultado indicou que para o intervalo de confiança de 95% apenas a concentração de ácido e carga de sólidos linear são estatisticamente significativos pela análise do p-valor. Com isso, apenas esses fatores interferem na concentração de ART, sendo a carga de sólidos com maior efeito sobre a concentração de ART. Os termos não significativos foram desconsiderados na análise de variância e somados aos resíduos.

Com a análise da variância, observa-se que o modelo proposto é estatisticamente significativo para a concentração de ART e pode ser utilizado com o propósito preditivo, pois o valor de $F_{\text{calculado}}$ (21,8) é superior ao F_{tabelado} (5,05) com intervalo de confiança de 95%. Com coeficiente de determinação de 95,62%

certificando a precisão do modelo aos dados experimentais. Obteve-se o modelo matemático (Equação 1) que descreve a concentração de ART obtida no pré-tratamento e a curva de contorno para otimização do resultado de concentração de ART.

$$ART (g/L) = 32,23 + 4,43A - 0,02A^2 + 10,14S + 0,87S^2 + 2,42AS \quad (1)$$

Em que: S representa a carga de sólidos e A representa a concentração de ácido sulfúrico.

O ponto ótimo da curva de contorno do pré-tratamento ocorre com 3% de concentração de ácido e 20% de carga de sólido, pois apresentou maior concentração de ART.

4 | CONCLUSÃO

Analisando os resultados obtidos, foi verificado que a condição experimental com maior liberação de ART (53,51 g/L) foi a de carga de sólidos de 17,8% e concentração de ácido sulfúrico de 2,7%; enquanto que na condição onde utilizou-se 5% de carga de sólidos e 2% de concentração de ácido sulfúrico, foi obtido a menor concentração de ART (19,35 g/L). A análise estatística realizada nos dados indicou que os fatores: carga de sólidos e concentrações de ácido sulfúrico lineares são significativos, sendo a carga de sólido de maior efeito. O modelo previsto na ANOVA é estatisticamente significativo e preditivo, com máxima concentração de açúcar redutor, em 3% de concentração de ácido e 20% de carga de sólidos, sendo essa condição a mais adequada para o pré-tratamento ácido para uma futura hidrólise enzimática e fermentação.

REFERÊNCIAS

BUCKERIDGE MS, SANTOS WD, SOUZA AP. **As rotas para o etanol celulósico no Brasil.** In: **Luís Augusto Barbosa Cortez. (Org.). Bioetanol da cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade.** São Paulo: Editora Edgard Blucher, p. 365-380, 2010.

CORTEZ LAB, **Bioetanol de cana de açúcar.** São Paulo: editora Blucher, 2010.

FIALHO JF, VIEIRA EA, **Mandioca no cerrado- Orientações técnicas.** Brasília: editora Embrapa, 2013.

Food and Agriculture Organization of the United Nations, **Save and Grow: Cassava A guide to sustainable production intensification,** Roma: FAO, 2013.

GALBE M, ZACCHI G, **Produção de etanol a partir de materiais lignocelulósicos,** In: **Luís Augusto Barbosa Cortez. (Org.). Bioetanol da cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade.** São Paulo: Editora Edgard Blucher, p. 697, 2010.

HERNÁNDEZ, DIM, **Efeitos da produção de etanol e biodiesel na produção agropecuária do Brasil**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2008.

MILLER, GL, **Use of Dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar**. *Analyt. Chem.*, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

Ministério de Minas e Energia, **Resenha Energética Brasileira**. Secretaria de Planejamento e Desenvolvimento Energético, 2017.

Petrobras, **Biocombustíveis- Ministério das Minas e Energia**. Editora: News day Consultoria de Comunicação e Marketing. P.7-9, 2009.

TEORIA DO ESTADO DE TRANSIÇÃO: DIHYDROAZULENE/VINYLHEPTAFULVENE

Data de aceite: 01/09/2020

Data de submissão: 06/06/2020

Andreas Erbs Hillers-Bendtsen

Universidade de Copenhague Copenhague
DK-2100, Dinamarca

Magnus Bukhave Johansen

Universidade de Copenhague Copenhague
DK-2100, Dinamarca

Kurt Valentin Mikkelsen

Universidade de Copenhague Copenhague
DK-2100, Dinamarca

RESUMO: A transição de combustíveis fósseis para fontes de energia renováveis requer tecnologias capazes de produzir e armazenar energia. Um candidato atraente que combina exclusivamente esses dois recursos é o emprego de comutadores de fotos moleculares para armazenamento de energia térmica solar molecular (most). Esses sistemas podem converter a luz solar em energia química armazenada, que pode ser liberada como energia térmica sob demanda e ser usada para aquecimento de ambientes ou para aquecimento de água doméstica.

PALAVRAS - CHAVE: DHA/VHF.

ABSTRACT: A transição de combustíveis fósseis para fontes de energia renováveis requer tecnologias capazes de produzir e armazenar energia. Um candidato atraente que combina exclusivamente esses dois recursos é o emprego de comutadores de fotos moleculares para

armazenamento de energia térmica solar molecular (MOST). Esses sistemas podem converter a luz solar em energia química armazenada, que pode ser liberada como energia térmica sob demanda e ser usada para aquecimento de ambientes ou para aquecimento de água doméstica.

KEYWORDS: DHA/VHF.

1 | INTRODUÇÃO

À medida que a sociedade se move para um foco maior nas fontes de energia renováveis, o problema do armazenamento confiável de energia se torna cada vez mais pertinente.

Várias soluções diferentes foram propostas nos últimos anos, incluindo baterias, represas e volantes giratórios. Neste relatório, investigamos uma solução química de fotoexcitar uma molécula e liberar seletivamente a energia como calor. Outro campo que tem sido amplamente estudado é o uso de radicais catônicos e neutros de moléculas orgânicas para formar um condutor para uso em eletrônica molecular. Vários grupos de pesquisa estudaram intensamente os sistemas moleculares fotocromáticos para a exploração da energia solar e os sistemas moleculares fotocromáticos estudados incluem o sistema Norbornadieno/Quadríclicano (NBD/QC),^{1, 2} azobenzos,³ diariletos,⁴⁻⁶ espiropiranos⁷ e o sistema Dihydroazulene/Vinylheptafulvene (DHA/VHF),⁸ este último o foco deste estudo. Esses sistemas

podem, por meio de reações fotoinduzidas, passar de um conformador de baixa energia para uma forma de energia mais alta que seja metaestável. Isso apresenta a oportunidade de armazenamento de energia denominada armazenamento térmico solar molecular (MOST).¹⁻¹⁶ No entanto, isso exige que a reação de retorno do sistema seja suficientemente lenta e possa ser controlada pela luz, pela ativação térmica ou pelo uso de um catalisador. O assunto da investigação atual é o sistema DHA/VHF foto-termocrômico e 3-amino-substituído, para o qual as estruturas e o esquema de reação são exibidos na Fig. 1. O sistema pai foi descoberto e sintetizado pela primeira vez em 1984 por Daub e colaboradores.⁸ Desde a sua descoberta, ele tem sido estudado extensivamente como um sistema potencial para armazenar energia solar no entanto, muitos problemas relatam o controle da reação de retorno que libera a energia armazenada.

Ou a reação de retorno é muito rápida, o que significa que não podemos armazenar a energia ou é muito lenta, impedindo a liberação da energia.

Neste relatório, consideraremos o sistema fotocromático dihidroazuleno/vinilheptafulvene (DHA/VHF) e, mais especificamente, o sistema mono- e diciano com três subtítulos:

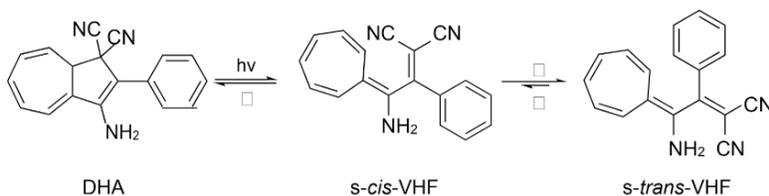


Figure 1: Os esquemas de estruturas e reações do sistema 3-amino-diciano- DHA/VHF.

Este sistema, sendo comutável entre o conformador DHA e os conformáveis VHF metaestáveis, desde a sua descoberta foi investigado com foco na aplicação em eletrônica molecular, armazenamento molecular de energia solar, comutação de moléculas.

Este relatório concentra-se na reação térmica traseira de s-cis-VHF em DHA, mostrada como o reverso da primeira reação no esquema acima. Essa reação libera energia térmica como calor, criando, assim, o potencial de armazenamento de energia solar com este sistema. As quatro variações diferentes do sistema são 1) o sistema 3-amino-monociano 2) o sistema 3-nitro-monociano 3) o sistema 3-amino-diciano e 4) o sistema 3-nitro-diciano. O sistema faz parte de um projeto para armazenar energia da radiação solar. Nesta parte, focaremos no cálculo da taxa constante da reação de retorno térmico de s-cis-VHF para DHA usando a teoria do estado de transição para

todas as três variações. Os quatro substituições diferentes serão referenciadas por seus números a partir deste ponto.

2 I CÁLCULOS DAS CONSTANTES DE TAXA DEPENDENTES DA TEMPERATURA

As geometrias dos diferentes conformadores do sistema molecular: DHA, *s-cis*-VHF e os estados de transição foram otimizados no vácuo usando o programa de estrutura eletrônica Gaussian09.¹⁷ O método utilizado foi o CAM-B3LYP¹⁸ funcional corrigido a longo prazo em combinação com aug-cc-pVDZ.^{19, 20} Após a convergência das geometrias, um cálculo de frequência subsequente foi feito para cada conformador.

Começamos determinando a barreira energética para cada reação. Encontramos a barreira energética em unidades de J (2.0743245960798121 10^{-19} J (3-amino- monociano) 2.2947098675885166 10^{-19} J (3-nitro-monociano) 7.30079073823835 10^{-19} J (3-amino-diciano) 1.833404910541475 10^{-19} J (3-nitro-diciano)).

A seguir, consideramos o proporção das funções de partição. A reação é neste caso um eletrocíclico térmico reação, o que significa que é unimolecular. Assim, a massa do reagente e a transição do estado é o mesmo e a proporção das funções da partição translacional é a unidade. Nós assumir que os estados eletrônicos excitados não contribuem para a partição eletrônica funções nas temperaturas que estamos considerando, ou seja, a razão entre elas também é a unidade. As relações de rotação e vibração precisarão ser calculadas para cada temperatura.

O ciclização neste sistema é permitida por simetria de uma maneira, de acordo com o regras de Woodward-Hoffmann, o que significa que o fator de simetria é um para todas as reações. Agora temos tudo o que precisamos para encontrar as constantes de taxa para todos os três sistemas. Podemos plotar os valores em função da temperatura de 290 a 370 K. Como a dependência da temperatura é bastante drástica, logaritmo natural da constante de taxa com a unidade dividida é plotado em vez de a taxa constante em si. Fazendo os cálculos, ficamos com o Figura 2.

Vemos que as constantes de taxa estão subindo com a temperatura e o sistema com o a barreira de energia mais baixa (3) é consistentemente aquela com a taxa mais

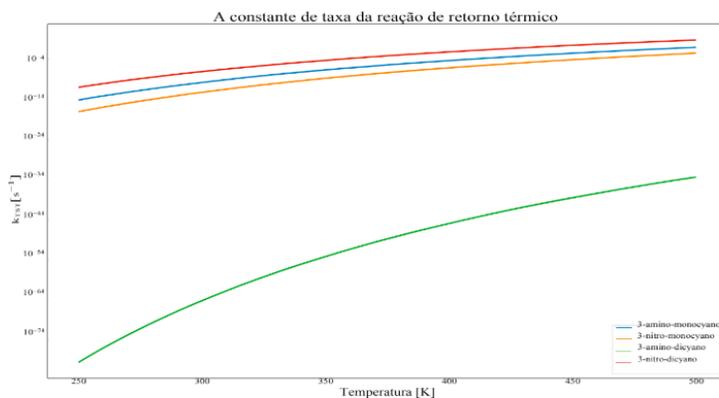


Figure 2: As constantes de taxa da reação de retorno térmico para as quatro reações em função da temperatura.

alta constante com o outros seguem o exemplo. Isso tem um enorme impacto em sua utilidade como absorvedores de radiação solar ou pelo menos em sua capacidade de armazená-la. A partir desses resultados, vemos que o sistema 3-aminodicyano libera a energia armazenada como calor muito mais rápido que os outros. Especialmente o salto de substituir um grupo ciano por hidrogênio é notável, enquanto substituir o grupo amino por um nitro também é uma maneira de diminuir a reação de retorno. Como esses valores podem ser um pouco abstratos, converteremos as constantes de taxa em 298 K em as meias-vidas da forma s-cis apenas considerando esta reação.

Nos temos a seguinte equação

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{\ln(2)}{k} \quad (1)$$

e fornece as seguintes vidas úteis

$$t_{\frac{1}{2}}(1) = 197 \text{anos} \quad (2)$$

$$t_{\frac{1}{2}}(2) = 76000 \text{anos} \quad (3)$$

$$t_{\frac{1}{2}}(3) = 9 \text{minutos} \quad (4)$$

$$t_{\frac{1}{2}}(4) = 195 \text{dias} \quad (5)$$

Os resultados exibem uma história de extremos, com uma exceção. O 3-aminodicyano sistema libera a energia armazenada muito rápido para a maioria das aplicações, o que a torna funcionalmente inútil, exceto por um passo na direção certa. Substituindo um dos grupos ciano o tempo de armazenamento aumentou dramaticamente, mas agora está em uma escala de tempo isso é igualmente inútil

para o armazenamento de energia, pois não podemos liberar a energia em tempo hábil maneira. Este resultado supõe que a molécula é deixada a si mesma para liberar a energia. E se a liberação de energia pode ser "ligada", embora um longo tempo de armazenamento sem fatores seriam desejáveis. Substituir o grupo amino por um grupo nitro nos deixa com um tempo de armazenamento que poderia ter alguma aplicação para armazenamento de energia sazonal, mas um liberação controlada ainda seria preferível. O que esses cálculos demonstram mais de tudo, porém, é como mesmo pequenas mudanças na estrutura de uma molécula podem ter enormes efeitos nas propriedades macroscópicas. Todos esses cálculos foram feitos sob o suposição de que a forma s-cis só pode ser convertida em DHA, o que não é verdade. Dependendo da rapidez com que o equilíbrio entre as formas s-cis e s-trans é alcançado a constante de equilíbrio da isomerização também terá um efeito importante, pois a forma cis é a que é capaz de se transformar novamente em DHA.

3 | CONCLUSÃO

Neste relatório, mostramos uma maneira relativamente simples de calcular constantes de taxa unimoleculares para uma reação que depende da relevância para captura e armazenamento de energia solar. A teoria do estado de transição é útil para as reações térmicas e é demonstrada para a reação de retorno de s-cis -VHF ao DHA.

REFERÊNCIAS

- 1 Z.-i. Yoshida. *J. Photochem.*, 29:27, 1985.
- 2 A.D. Dubonosov, V. A. Bren, and V. A. Chernoiyanov. *Russ. Chem. Rev.*, 71:917, 2002.
- 3 R. Loucif-Saibi, K. Nakatani, J. A. Delaire, M. Dumont, and Z. Sekkat. Photoisomerization and second harmonic generation in disperse red one-doped and - functionalized poly(methyl methacrylate) films. *Chem. Mater.*, 5(2):229–236, 1993.
- 4 Gerasimos M. Tsvigoulis and Jean-Marie Lehn. Photoswitched and functionalized oligothiophenes: Synthesis and photochemical and electrochemical properties. *Chem. Eur. J.*, 2(11):1399–1406, 1996.
- 5 M. Del Zoppo, A. Lucotti, C. Bertarelli, and G. Zerbi. A new class of molecules with large, switchable vibrational non-linear optical responses: Photochromic diarylethene systems. *Vib. Spectrosc.*, 43(1):249 – 253, 2007. VIBRATIONAL SPECTROSCOPY.
- 6 Kenji Higashiguchi, Kenji Matsuda, Naoki Tanifuji, and Masahiro Irie. Full-color photochromism of a fused dithienylethene trimer. *J. Am. Chem. Soc.*, 127(25):8922–8923, 2005. PMID: 15969548.

- 7 Aurelie Plaquet, Maxime Guillaume, Benoit Champagne, Frederic Castet, Laurent Ducasse, Jean-Luc Pozzo, and Vincent Rodriguez. In silico optimization of merocyanine-spiropyran compounds as second-order nonlinear optical molecular switches. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 10:6223–6232, 2008.
- 8 Jörg Daub, Thomas Knöchel, and Albrecht Mannschreck. Photosensitive dihydroazulenes with chromogenic properties. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 23(12):960–961, 1984.
- 9 Y. Kanai, V. Srinivasan, S.K. Meier, K.P.C. Vollhardt, and J.C. Grossman. *Angew. Chem., Int. Ed.*, 49:8926, 2010.
- 10 T.J. Kucharski, Y. Tian, S. Akbulatov, and R. Boulatov. *Energy Environ. Sci.*, 4:4449, 2011.
- 11 K. Moth-Poulsen *Organic Synthesis and Molecular Engineering*. (Ed. M.B.Nielsen). Wiley, USA, 2014.
- 12 A. Lennartson, A. Roffey, and K. Moth-Poulsen. *Tetrahedron Lett.*, 56:1457, 2015.
- 13 L. Dong, Y. Feng, L. Wang, and Feng. W. *Chem. Soc. Rev.*, 47:7339, 2018.
- 14 K. K.Edel, X. Yang, J.S.A. Ishibashi, A.N. Lamm, C. Maichle-Mossmar, Z.X. Giustra, S.-Y. Liu, and H.F. Bettinger. *Angew. Chem., Int. Ed.*, 57:5296, 2018.
- 15 C.-L. Sun, C. Wang, and R. Boulatov. *ChemPhotoChem*, 3:268, 2019.
- 16 J. Gurke, M. Quick, N.P. Ernsting, and S. Hecht. *Chem. Commun.*, 53:2150, 2017.
- 17 M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, O. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, and D. J. Fox. Gaussian09 Revision D.01. Gaussian Inc. Wallingford CT 2009.
- 18 Takeshi Yanai, David P Tew, and Nicholas C Handy. A new hybrid exchange– correlation functional using the coulomb-attenuating method (cam-b3lyp). *Chem. Phys. Lett.*, 393(1-3):51–57, 2004.
- 19 Angela K Wilson, Tanja van Mourik, and Thom H Dunning Jr. Gaussian basis sets for use in correlated molecular calculations. vi. sextuple zeta correlation consistent basis sets for boron through neon. *J. Mol. Struct.: THEOCHEM*, 388:339–349, 1996.
- 20 Thom H Dunning Jr. Gaussian basis sets for use in correlated molecular calculations. i. the atoms boron through neon and hydrogen. *J. Chem. Phys.*, 90(2):1007– 1023, 1989.

SOBRE A ORGANIZADORA

ÉRICA DE MELO AZEVEDO - Possui Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (2019), Graduação em Química com Atribuições Tecnológicas pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (2012) e complementação pedagógica para exercício da docência na Faculdade Souza Marques (2015). É docente efetiva do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ) e ministra aulas de Química Geral e Inorgânica para turmas do Ensino Médio/Técnico e Graduação e aulas de análise térmica aplicada à alimentos para turmas da Pós-Graduação. Atualmente é vice-coordenadora de Extensão do IFRJ Campus Duque de Caxias. Coordena e colabora com projetos de pesquisa no IFRJ e colabora em projetos de pesquisa financiados pelo CNPq e desenvolvidos na Escola de Química da UFRJ na área de Tecnologia Química, análise térmica e tratamento térmico de resíduos. Orientou e participou de bancas de trabalhos de conclusão de curso nos temas citados. Têm atuado como membro de comissões julgadoras de editais de fomento à pesquisa e bolsas de iniciação científica do CNPq no âmbito do IFRJ. Publicou artigos em revistas nacionais e internacionais na área de Análise Térmica e na área de Educação e em Congressos. Desde 2016 é revisora do renomado periódico Journal of Thermal Analysis (JTAC). Atuou como tutora presencial do Consórcio CEDERJ e em escolas particulares e cursos pré-militares e pré-vestibulares.

ÍNDICE REMISSIVO

A

- Agentes nucleantes 35, 39
- Alface 124, 126, 127, 131
- Alginato de sódio 145, 147, 152
- Amido de manga 1, 8, 10
- Análise de combustíveis 12, 13
- Armazenamento de energia térmica solar 197
- Aromaterapia 48, 50, 51, 56, 57
- Atividade antioxidante 28, 113, 115, 116, 118, 119, 121, 122, 146
- Atividade biológica 28, 162

B

- Bagaço de malte de cervejaria 76, 78
- Biofuel 174, 175

C

- Capim limão 162, 164, 165, 166, 168, 169, 170, 171
- Caracterização fitoquímica 113
- Chalcona 27, 29, 30, 32, 33
- Conversão 78, 89, 90, 156, 192
- Corante 58, 59, 61, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 91, 155, 156, 157, 158, 160, 161
- Corantes têxteis 58, 60, 71

D

- Descoloração fúngica 58
- Dispersão água-óleo 41, 46

E

- Enzimas antioxidantes 123, 125, 126, 127, 130, 132
- Estabilidade oxidativa 96, 102
- Etanol de segunda geração 78, 191, 192, 193

G

- Gelificação iônica 145, 146, 147, 152

Goma de linhaça 104, 105, 106, 108, 109, 110, 111

H

Hidrólise ácida 76, 78, 80, 81, 82, 86, 134, 136, 138, 139, 140, 142

L

Laurato de vinila 1, 3, 5, 6, 7, 8, 10

M

Mathematical model 174, 183, 184, 185, 186, 188

Metais pesados 13, 14, 123, 125, 126, 128, 129, 130, 131, 132

Métodos eletroanalíticos 12

Métodos Eletroanalíticos 12, 16

Microencapsulação 145, 152, 153

Modelagem cinética 155, 156, 160

Modificador reológico 1, 3, 5, 9, 10

Montmorilonita 35, 36

N

Nanocelulose 134, 135, 136, 137, 138, 142, 143, 144

O

Óleo de maracujá 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102

Óleo de pequi 145, 147, 152

Óleo essencial 50, 51, 52, 53, 54, 162, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171

Óleo ylang-ylang 48, 56

P

Pau-mocó 113, 114

Pet micronizado 35

Poli(ácido láctico) 35

Pré-hidrólise 134, 136, 138, 139, 140, 142

Pré-tratamento ácido 191, 192, 193, 195

Propriedades pro-oxidantes 155, 156, 160

R

Raio hidrodinâmico 104, 107, 109, 110, 111

Rama de mandioca 191

Reator CSTR 90

Reologia 104, 154

S

Separação gravitacional 41, 42, 43

Sistemas moleculares 197

T

Tempo de residência 89, 90, 91, 93, 94

A Química nas Áreas Natural, Tecnológica e Sustentável **3**



www.atenaeditora.com.br



contato@atenaeditora.com.br



[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)



www.facebook.com/atenaeditora.com.br

A Química nas Áreas Natural, Tecnológica e Sustentável **3**

-  www.atenaeditora.com.br
-  contato@atenaeditora.com.br
-  [@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)
-  www.facebook.com/atenaeditora.com.br