

9º CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO EM PETRÓLEO E GÁS



9º CONGRESSO
Brasileiro de **P&D** em
PETRÓLEO E GÁS

Maceió, AL
de 09 a 11 de novembro
2017

Realização:



ABPG
ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE P&D EM
PETRÓLEO E GÁS



TÍTULO DO TRABALHO:

Desenvolvimento de Aditivos Inibidores da Proliferação Microbiana para uso no Biodiesel

AUTORES:

Lafaiete Marcony Silva dos Santos, Marilena Meira, Thiago Pereira Borges

INSTITUIÇÃO:

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia – Campus Simões Filho

Este Trabalho foi preparado para apresentação no 8º Congresso Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento em Petróleo e Gás - 9º PDPETRO, realizado pela Associação Brasileira de P&D em Petróleo e Gás - ABPG, no período de 09 a 11 de novembro de 2017, em Maceió/AL. Esse Trabalho foi selecionado pelo Comitê Científico do evento para apresentação, seguindo as informações contidas no documento submetido pelo(s) autor(es). O conteúdo do Trabalho, como apresentado, não foi revisado pela ABPG. Os organizadores não irão traduzir ou corrigir os textos recebidos. O material conforme, apresentado, não necessariamente reflete as opiniões da Associação Brasileira de P&D em Petróleo e Gás. O(s) autor(es) tem conhecimento e aprovação de que este Trabalho seja publicado nos Anais do 9º PDPETRO.

DESENVOLVIMENTO DE ADITIVOS INIBIDORES DA PROLIFERAÇÃO MICROBIANA PARA USO NO BIODIESEL

Abstract

In order to achieve targets for reducing the emission of polluting gases in the atmosphere, the government Brazilian comes every year increasing the biodiesel content in diesel. Currently, with the increase of the price of fossil fuels and of number of automotive vehicles, the use of the B100 would be a strategic solution in the economic and environmental field. Resolution No. 11/2017 of the National Energy Policy Council (CNPE), allows the commercialization of biodiesel added to diesel by 8%. But the proposal is to increase this percentage

Compared to fossil fuel, biodiesel is more susceptible to oxidation. This low oxidative stability, in addition to influencing its shelf life, reduces its quality as a fuel and increases its corrosivity to metals. The oxidation of biodiesel can occur by chemical and microbiological processes. Among the factors which influence in this process the main nature of the raw material, storage location, temperature, presence of light and humidity. Biodiesel facilitates microbial proliferation due to its absorption capacity of the air humidity, initiating the hydrolysis process.

Although Brazil has become the largest producer and consumer of biodiesel in the world, necessary investments in research and innovation so that we can overcome the disadvantages of this biofuel. The use of additives with inhibitory effect on microbial proliferation can make B100 viable as fuel.

The dilution in broth is a method that allows to investigate the antimicrobial activity of additives in biodiesel. This essay considers the relationship between density and turbidity caused by growth microbial. We used residual soybean biodiesel samples in the control test and the same biodiesel with addition of 0.1% of extracts of *Curcuma longa* (turmeric), *Syzygium aromaticum* (cloves), *Origanum vulgare* (oregano). All samples were inoculated with sludge formed in aged biodiesel. Resazurin solution $C_{12}H_7NO_4$ (0.01%) was used as an indicator of microbiological activity, being purple as absence of microbiological growth and pink color as presence of growth microbiological.

The test tubes were observed daily. The table below indicates the number of days in which the test tubes remained stable until the beginning of the degradation when the phase staining watery color became pink. It has been found that the best inhibitors of microbial proliferation were extracts of Oregano (11 days) and Turmeric (12 days). Both used in the percentage of 0.1% in biodiesel.

Introdução

O uso de óleos vegetais e gordura animal como combustível é antigo, de muito antes do desenvolvimento dos motores e dos automóveis. Os primeiros registros são estimados de milhares de anos atrás. E somente com o advento da indústria do petróleo no final do século XIX, o uso de óleos e gorduras para fins energéticos foi sendo trocado por derivados de petróleo. (PARENTE, 1993; ITURRA, 2003). Com a expansão da indústria automobilística, as emissões de poluentes pela queima do combustível fóssil tornaram-se um problema ambiental, e medidas foram gradativamente sendo tomadas pelos governos, afim de minimizar a poluição e na tentativa de tornar esses combustíveis mais limpos. Com o aumento do preço do petróleo em função da diminuição das reservas de o biodiesel surgiu neste cenário como uma proposta de combustível ecológico.

Há atualmente uma tendência para se substituir gradativamente o diesel pelo biodiesel. Este é considerado um combustível ecológico por contribuir menos para o efeito estufa, ser biodegradável, não tóxico, não inflamável e emitir menos material particulado quando comparado com o combustível fóssil (MEIRA et al., 2011). O uso do biodiesel em misturas com diesel reduz as emissões de alguns gases, como, monóxido de carbono, dióxido de carbono e óxidos de enxofre. No entanto, observa-se um leve aumento nas emissões de óxidos de nitrogênio. Neste contexto, as grandes vantagens da utilização do biodiesel como combustível são os benefícios ambientais. (NABI et al., 2003).

Com base nessas considerações, o biodiesel constitui na atualidade uma das mais importantes alternativas para os combustíveis derivados do petróleo. Atualmente, o biodiesel está em uso como um combustível adicionado ao diesel no percentual de no máximo 8%, de acordo com a resolução 11/2017 do Conselho Nacional de Política Energética (CNPE). O Brasil é um País de destaque no cenário mundial de biocombustíveis, pela sua extensão territorial, associada as excelentes condições climáticas, sendo considerado um paraíso para a produção de biomassa para fins alimentares, químicos e energéticos (HOLANDA, 2004).

O biodiesel pode ser degradado facilmente por contaminação microbiológica, que pode ser acelerada pela absorção de água. O uso de aditivos com ação biocida no biodiesel pode evitar o crescimento microbial. Apesar da importância do tema, os estudos relacionados ao desenvolvimento de novos aditivos multifuncionais para o biodiesel ainda são muito escassos. Neste sentido, a busca pelo desenvolvimento de aditivos voltados para o controle da atividade microbiana é uma necessidade para a continuidade deste biocombustível na matriz energética. Os compostos derivados de fontes vegetais são de interesse para a indústria química, por apresentarem aplicações tecnológicas e biológicas e serem renováveis.

O biodiesel é formado por ésteres de ácidos graxos de cadeia longa, obtido a partir de fontes renováveis de natureza graxa, como óleos vegetais ou gordura animal (MEIRA et al., 2011). Este biocombustível quando recém produzido é considerado um combustível relativamente inerte. No entanto, apesar das inúmeras vantagens apresentadas em relação ao diesel, o biodiesel é significativamente menos estável que o diesel, o que significa que o biodiesel é mais susceptível à oxidação que o derivado do petróleo. Durante o armazenamento do biodiesel podem ocorrer alterações em suas propriedades que podem diminuir a sua qualidade como combustível. Estas alterações são devidas às reações hidrolíticas, microbiológicas e oxidativas, resultando na formação de ácidos orgânicos, hidroperóxidos, álcoois, aldeídos, cetonas, sedimentos e gomas, que podem causar problemas operacionais no veículo (JAIN; SHARMA, 2010).

O biodiesel pode se degradar por processos químicos e microbiológicos e a sua susceptibilidade à oxidação depende de vários fatores, tais como, da matéria prima que o originou, do grau de insaturação das cadeias carbônicas dos ésteres que o compõem, do processo de produção utilizado, da temperatura ambiente, da presença de umidade, luz e de antioxidantes intrínsecos, como por exemplo, o tocoferol (MEIRA et al., 2011). O biodiesel é cerca de 30 vezes mais higroscópico do que o diesel o que faz com que seja mais susceptível à oxidação que o combustível derivado do petróleo. (AMBROZIN; MONTEIRO, 2009). A água absorvida promove a proliferação microbiana o que acelera a biodegradação do biodiesel (RYU, 2010). Estes processos de degradação podem ainda ser acelerados pela exposição ao ar, umidade, metais, luz e calor ou mesmo a ambientes contaminados por microrganismos. A degradação química ocorre preferencialmente nas insaturações das cadeias carbônicas. A degradação por ação de microrganismos se processa em toda a cadeia do éster, sem distinção de tipos de ligações químicas. O biodiesel favorece a proliferação de fungos e bactérias tendo em vista sua capacidade de absorver água e por ser uma fonte de nutrição para os microrganismos (RAMALHO et al., 2011; SCHLEICHER et al., 2009).

Metodologia

Reação de transesterificação

Reagentes:

Óleo de soja residual;

Metóxido de sódio recentemente preparado: Dissolver 1g de hidróxido de sódio (NaOH) em 80 mL de metanol (CH_3OH) com o auxílio de agitação e controle de temperatura (45°C) até a completa dissolução de NaOH.

Em um balão de fundo chato (500 mL) são adicionados 300g do óleo de soja. Esse material é aquecido, sob agitação com o auxílio de uma bagueta magnética, até atingir a temperatura de 40°C . Em seguida, é adicionada a solução de metóxido de sódio recentemente preparada, e a mistura reacional deve permanecer 1h30min a 45°C sob agitação.

Posteriormente, a mistura reacional é transferida para um funil de separação para permitir a decantação e separação das fases: superior contendo biodiesel e inferior composta de glicerol, sabões, excesso de base e álcool.

Após a separação das fases, o biodiesel passa para o processo de lavagem no funil decantador. A lavagem é feita com água deionizada e leve agitação manual. O processo de lavagem com água deionizada se repete por três vezes, e por fim, o biodiesel é lavado com uma solução saturada de cloreto de sódio (NaCl). Para remoção dos traços de umidade, o biodiesel é filtrado utilizando-se sulfato de magnésio e transferido para um balão volumétrico de 500 mL.

Produção de extratos naturais

Em um cartucho de celulose, a biomassa triturada é adicionada, envolta de um papel filtro, e posta no compartimento central do extrator Soxhlet. Abaixo, no balão, é adicionado 250ml de Clorofórmio (CHCl_3) e aquecido a temperatura de ebulição. A extração Soxhlet foi escolhida como método de extração por realizar uma extração de forma contínua, de forma que a cada ciclo de evaporação-condensação, solvente líquido puro entra em contato com o vegetal, e desta forma consegue extrair com maior eficiência os constituintes solúveis no solvente usado.

Avaliação do potencial inibitório da proliferação microbiana de aditivos em biodiesel

Este ensaio foi desenvolvido usando um indicador de proliferação microbiana, a resazurina (0,001%). A resazurina é um corante azul, redutível a resorufina, um corante rosa na presença de atividade microbiana. Os testes foram realizados utilizando tubos de ensaio de 50 mL, com amostras de biodiesel (30 mL) com 0,1% de aditivo.

Para fazer as soluções de biodiesel com aditivos, os extratos foram pesados, adicionados ao biodiesel em temperatura ambiente, e agitados com o auxílio de um bastão. Em seguida, a solução de biodiesel foi filtrada e 30 mL de cada solução foi transferida para o tubo de ensaio.

Todos os tubos receberam adição do inóculo (0,2 mL) e 10 mL de solução aquosa de resazurina (0,001%). Como controle foi utilizado 30 ml de biodiesel, 0,2 mL de inóculo e 10 mL de solução de resazurina 0,001%.

O inóculo não caracterizado foi produzido a partir de borra de biodiesel envelhecido e solução aquosa de micronutrientes que permaneceu sob agitação para proliferação microbiana durante 7 dias.

Então os tubos foram fechados e submetidos a agitação manual, misturando a fase oleica e aquosa, para permitir a interação do inóculo em todo o conteúdo do tubo. Após a separação das fases, os tubos foram armazenados em local seco, em temperatura ambiente (aprox. 25°C), e ao abrigo de luz. A observação das amostras foi realizada diariamente.

Resultados e Discussão

Sabe-se que muitas espécies de plantas possuem propriedades antibióticas. Essas propriedades podem ser utilizadas em diversos campos, desde que haja a possibilidade de se conservar as propriedades antimicrobianas para o uso desejado.

Os aditivos testados foram constituídos de extratos de cúrcuma (*Curcuma longa*), cravo (*Syzygium aromaticum*) e orégano (*Origanum vulgare*) na proporção de 0,1%, sendo 0,03g para 30g de biodiesel de soja.

O teste qualitativo desenvolvido é um teste simples, mas, que permite visualizar quando o meio aquoso é propício ao desenvolvimento de microrganismos (cor rosa) ou quando ele tem a capacidade de inibir o a proliferação microbiana (púrpura).

Os extratos vegetais utilizados devem ser recentemente preparados, pois a utilização de extratos envelhecidos para fins de aditivação pode gerar resultados equivocados. Como se trata de produtos naturais, também são suscetíveis à degradação.

A tabela abaixo indica a quantidade de dias em que a fase aquosa dos tubos de ensaio permaneceu com coloração púrpura até o início da degradação quando a coloração da fase aquosa se tornou rosa.

Tabela 1: Resultados dos testes de atividade microbiológica

Ensaio	Tempo até o início da degradação
Controle	4 dias
Cravo 0,1%	4 dias
Orégano 0,1%	11 dias
Cúrcuma 0,1%	12 dias

Ao final do teste, verificou-se que os melhores inibidores da proliferação microbiana foram os extratos de Orégano (11 dias) e Cúrcuma (12 dias). Ambos usados no percentual de 0,1% no biodiesel.

Conclusões

Verificou-se que os extratos de orégano e cúrcuma mostraram potencial uso como inibidores da proliferação microbiana. Outros testes quantitativos se fazem necessário para posterior uso como aditivo no biodiesel.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), por financiar as bolsas e recursos para desenvolvimento do projeto.

Referências Bibliográficas

- AMBROZIN, A.R.P.; KURI, S. E.; MONTEIRO, M. R. Corrosão metálica associada ao uso de combustíveis minerais e biocombustíveis. *Quim. Nova*, v. 32, p. 1910-1916, 2009.
- FUKUDA, H.; KONDO, A.; NODA, H. Biodiesel fuel production by transesterification of oils. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, Osaka, v. 92, n. 5, p. 405-416, 2001.
- HOLANDA, A. Biodiesel e inclusão social. Brasília: Câmara dos Deputados, 2004.
- ITURRA, A. R. Histórico do Biodiesel no Brasil. Biblioteca do Ministério da Ciência e Tecnologia, 2003.
- JAIN, S.; SHARMA, M. P. Stability of biodiesel and its blends: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 14, p. 667-678, 2010.
- MEIRA, M.; QUINTELLA, C.M.; FERRER, T.M.; SILVA, H.R.G.; GUIMARÃES, A.K.; SANTOS, M.A.; PEPE, I.M.; COSTA NETO, P.R. Identificação de adulteração de biocombustível por adição de óleo residual ao diesel por espectrofluorimetria total 3d e análise das componentes principais. *Quim. Nova*, v. 34, p. 621-624, 2011.
- MEIRA, M.; QUINTELLA, C.M.; TANAJURA, A.A.; SILVA, H.R.G.; FERNANDO, J.E.S.; COSTA NETO, P.R.; PEPE, I.M.; SANTOS, M.A.; NASCIMENTO, L.L. Determination of the oxidation stability of biodiesel and by spectrofluorimetry and multivariate calibration. *Talanta* v. 85, p. 430-434, 2011.
- MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA. Resoluções CNPE – 2017. Disponível em: <<http://www.mme.gov.br/web/guest/conselhos-e-comites/cnpe/cnpe-2017>>. Acesso em: 12 jul 2017.
- NABI, M.N.; AKHTER, M.S., ZAGLUL SHAHADAT, M.M. Improvement of engine emissions with convencional diesel fuel and diesel-biodiesel blends. *Bioresource Technology*, v. 97, p. 372-378, 2006.
- PARENTE, E. J. S. Proposta de um óleo diesel alternativo. Tese do Concurso Para Professor Titular do Departamento de Engenharia Química do Centro de Tecnologia da UFC. 1993.

RAMALHO, E. F. S. M.; ALBUQUERQUE, A. R.; SOUZA, A. L.; BARRO, A. K.; MAIA, A. S.; SANTOS, I. M. G.; SOUZA, A. G. Use of different techniques in the evaluation of the oxidative stability of poultry fat biodiesel. *Journal of Thermal Analysis Calorimetry*, v. 106, p. 787-791, 2011.

RYU, K. The characteristics of performance and exhaust emissions of a diesel engine using a biodiesel with antioxidants. *Bioresource Technology*, v. 101, p. 578-582, 2010.

SCHLEICHER, T.; WERKMEISTER, R.; RUSS, W.; MEYER-PITTOFF, R. Microbiological stability of biodiesel-diesel-mixtures. *Bioresource Technology*, v. 100, p. 724-730, 2009.