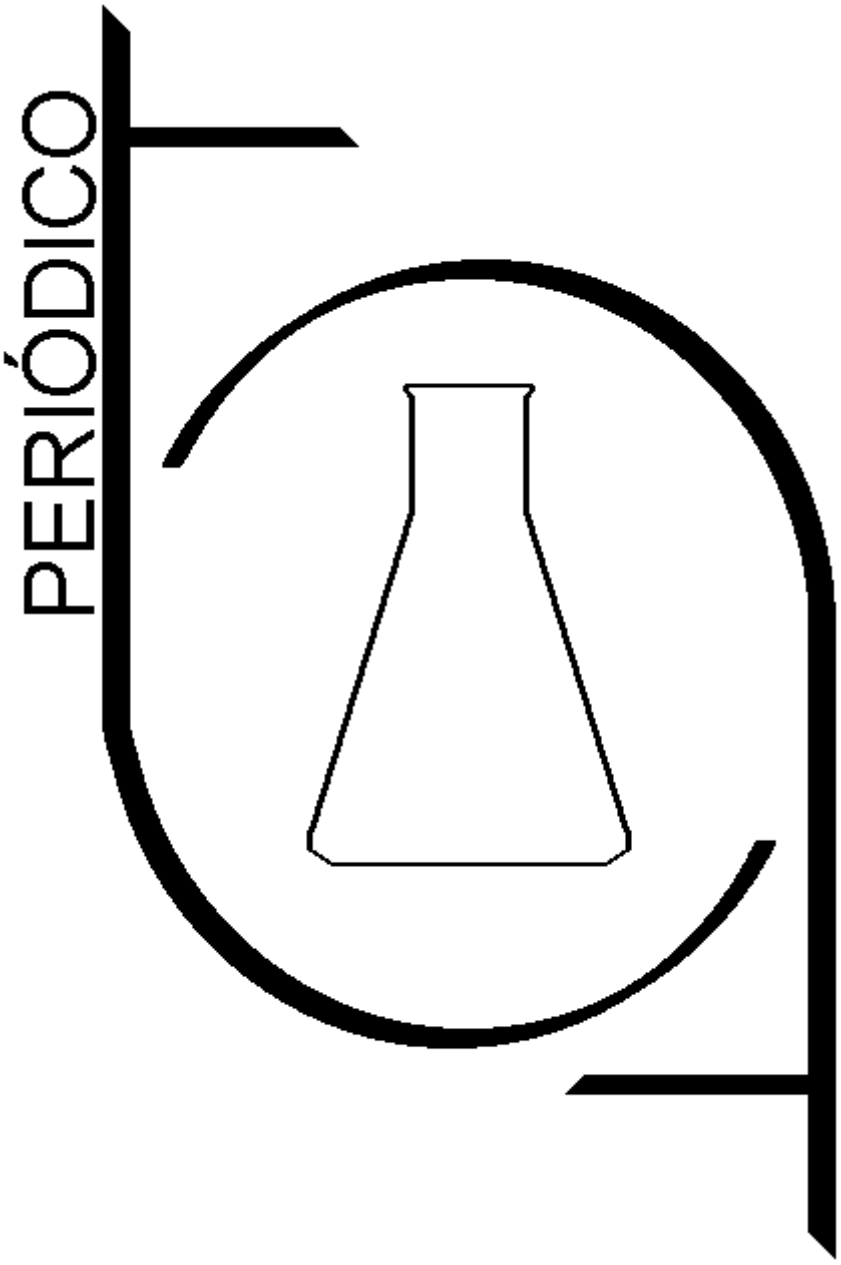
PERIÓDICO TCHÊ QUÍMICA



Volume 16 - Número 31 - 2019 ISSN 2179-0302

Órgão de divulgação científica e informativa

www.periodico.tchequimica.com

PERIÓDICO TCHÊ QUÍMICA

ISSN - 1806-0374 (Impresso) - ISSN - 1806-9827 (CD-ROM) - ISSN - 2179-0302 (Online)

Volume 16 **Número 31 – 2019** **ISSN 2179 - 0302**

Órgão de divulgação científica e informativa.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Periódico Tchê Química: órgão de divulgação científica e informativa [recurso eletrônico] / Grupo Tchê Química – Vol. 1, n. 1 (Jan. 2004)- . – Porto Alegre: Grupo Tchê Química, 2005 - Semestral.
Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader.
Modo de acesso: World Wide Web:
<http://www.tchequimica.com>

Descrição baseada em: Vol. 14, n. 28 (ago. 2017).
ISSN 1806-0374
ISSN 1806-9827 (CD-ROM)
1. Química. I. Grupo Tchê Química.

CDD 540

Bibliotecário Responsável
Ednei de Freitas Silveira
CRB 10/1262

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

PERIÓDICO TCHÊ QUÍMICA

Volume 16 Número 31 – 2019 ISSN 2179 - 0302

Órgão de divulgação científica e informativa.

Comissão Editorial

Editores-chefe

- Dr. Luis Alcides Brandini De Boni, deboni@tchequimica.com
- Dr. Eduardo Goldani, goldani@tchequimica.com

Editores técnicos

- Ednei de Freitas Silveira – *Bibliotecário Responsável*
- Dr. Francisco José Santos Lima, lima@tchequimica.com , Brasil, UFRN.
- Dr. Carlos Eduardo Cardoso, cardoso@tchequimica.com, Brasil, USS.
- Dr. Sérgio Machado Corrêa, correa@tchequimica.com, Brasil, UERJ.

Corpo Editorial

Membros

- Teresa M. Roseiro Maria Estronca, Dr., roseiro@tchequimica.com, Portugal, UC.
- Monica Regina da Costa Marques, Dr., aguiar@tchequimica.com, Brasil, UERJ.
- Ketevan Kupatadze, Dr., kupatadze@tchequimica.com , Geórgia, ISU.
- Márcio von Mühlen, Dr., vonmuhlen@tchequimica.com, EUA, MIT.
- Élcio Jeronimo de Oliveira, Dr., elcio@tchequimica.com, Brasil, CTA.
- José Carlos Oliveira Santos, Dr., zecarlosufcg@tchequimica.com, Brasil, UFCG.
- Alcides Wagner Serpa Guarino, Dr., guarino@tchequimica.com, Brasil, UNIRIO.
- Roseli Fernandes Gennari, Dr., gennari@tchequimica.com, Brasil, USP.
- Rafael Rodrigues de Oliveira, Dr., oliveira@tchequimica.com, Brasil, Brava Biosciences.
- Lívio César Cunha Nunes, Dr., nunes@tchequimica.com, Brasil, UFPI.
- João Guilherme Casagrande Jr, Dr., casagrande@tchequimica.com, Brasil, EMBRAPA.
- Denise Alves Fungaro, Dr., fungaro@tchequimica.com, Brasil, IPEN.
- Murilo Sérgio da Silva Julião, Dr., juliao@tchequimica.com, Brasil, UVA.
- Amit Chaudhry, Dr., chaudhry@tchequimica.com, India, Panjab University.
- Hugo David Chirinos Collantes, Dr., chirinos@tchequimica.com, Peru, UNI.
- Carlos E. de Medeiros J., Dr. jeronimo@tchequimica.com, Brasil, PETROBRAS.
- Walter José Peláez, Dr., pelaez@tchequimica.com, Argentina, UNC.
- Rodrigo Brambilla, Dr., brambilla@tchequimica.com, Brasil, UFRGS.
- Joan Josep Solaz-Portolés, Dr., solaz@tchequimica.com, Espanha, UV.
- José Euzébio Simões Neto, Dr. simoes@tchequimica.com, Brasil, UFRP.
- Aline Maria dos Santos Teixeira, Me., santos@tchequimica.com, Brasil, UFRJ.
- César Luiz da Silva Guimarães, Me., guimaraes@tchequimica.com, Brasil,

IBAMA.

- Daniel Ricardo Arsand, Dr., arsand@tchequimica.com, Brasil, IFSul.
- Paulo Sergio Souza, Dr., souza@tchequimica.com, Brasil, Fundação Osorio.
- Moisés Rômolos Cesário, Dr., romolos@tchequimica.com, França, ULCO.
- Vanessa Barbieri Xavier, Me., xavier@tchequimica.com, Brasil, PUCRS.
- Danyelle Medeiros de Araújo Moura, Me., moura@tchequimica.com, Brasil, UFRN.
- Gabriel Rubensam, Me., grubensam@tchequimica.com, Brasil, UFRGS.
- Masurquede de Azevedo Coimbra, Me., coimbra@tchequimica.com, Brasil, Sec. de Saúde do Estado - RS.
- Oana-Maria Popa, Me., popa@tchequimica.com, IPN, Romênia.
- Andrian Saputra, PhD., saputra@tchequimica.com, University of Lampung, Indonesia

Periódico Tchê Química

ISSN - 1806-0374 (Print)
ISSN - 1806-9827 (CD-ROM)
ISSN - 2179-0302 (Online)

LCCN: 2010240735

Divulgação *on-line* em
http://www.periodico.tchequimica.com
http://www.journal.tchequimica.com
http://www.tchequimica.com

Esta revista é indexada e resumida pelo CAS, EBSCO,Latindex, Sumários, Index Copernicus, Scopus, OAIJ, CAB Abstracts e Reaxys.

* CAS (*Chemical Abstracts Service, a division of the American Chemical Society*.)
* OAIJ (*Open Academic Journals Index*)

Missão

O Periódico Tchê Química (PTQ) publica artigos de pesquisa originais, artigos de revisão, notas curtas (publicações científicas), revisões de livros, artigos de fórum, editoriais e entrevistas. Pesquisadores de todos os países são convidados a publicar nas páginas do PTQ.

A responsabilidade sobre os artigos é de exclusividade dos autores.

Correspondências
Rua Anita Garibaldi, 359/603.
Bairro Mon't Serrat. CEP: 90450-001
Porto Alegre – RS. Brasil.
Skype: tchequimica
www.periodico.tchequimica.com
tchequimica@tchequimica.com

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Índice

Recommended translation service **Página – 11**

Artigo / Article

SOARES, G. L.; SANTOS, B. L. C. ; LUZ, B. R. A.; OLIVEIRA, W. A.

UFCG, BRASIL.

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DA ASSOCIAÇÃO DO CARVACROL COM A ANFOTERICINA B OU COM O CETOCONAZOL

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF THE ASSOCIATION OF CARVACROL WITH AMPHOTERICIN B OR WITH KETOCONAZOLE

Página – 12

Artigo / Article

SANTOS, JOICY RIBEIRO DOS; VIEIRA, MASLÂNDIA NOGUEIRA

UFRN, BRASIL.

USO DO MANDACARU (Cereus jamacaru) COMO COAGULANTE NATURAL PARA O TRATAMENTO DE ÁGUA

USE OF MANDACARU (Cereus Jamacaru) AS A NATURAL COAGULANT FOR WATER TREATMENT

Página – 27

Artigo / Article

VALENTIM, L. C. G.; LUCENA, H. de A. N.; AMARAL, I. B. C.; COUTO, L. C.; REIS, A. B.

UFVJ - BRASIL

INDÚSTRIA DE CELULOSE FLUFF DE FIBRA CURTA: VIABILIDADE ECONÔMICA E POTENCIAL ENERGÉTICO

SHORT FIBER FLUFF CELLULOSE INDUSTRY: ECONOMIC vIABILITY AND ENERGY POTENTIAL

Página – 49

Artigo / Article

VIEIRA, D. G.; JURESZIK, K. A.

UNICENTRO, BRASIL.

UTILIZAÇÃO DE SISTEMAS NANOESTRUTURADOS DE CURCUMINA COMO NUTRACÊUTICOS: REVISÃO BIBILIOGRÁFICA

USE OF NANOSTRUCTURED CURCUMINE SYSTEMS AS NUTRACEUTICAL: BIBILIOGRAPHIC REVIEW

Página - 67

Artigo / Article

GOMES, P. R. B.; SANTOS, D. P.; FILHO, V. E. M.; MENDES, L. S. dos S.; FONTENELE, M. A.

UFMA, BRASIL.

***A*TIVIDADE LARVICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DO CINNAMOMUM ZEYLANICUM BLUME**

ACTIVITY LARVICIDE OF THE ESSENTIAL OIL OF CINNAMOMUM ZEYLANICUM BLUME

Página – 18

Artigo / Article

de Lima, R. A.; de Medeiros, Giovana M.; Uekane, T. M.; de Rezende, C. M.; and Alves, Andréa A. R.

UFF, BRASIL.

MONITORAMENTO DE RESÍDUOS DE AGROQUÍMICOS EM ERVAS SECAS COMERCIAIS UTILIZANDO GC-MS-SIM

MONITORING RESIDUES OF AGROCHEMICALS IN COMMERCIAL DRIED HERBS USING GC-MS-SIM

Página – 38

Artigo / Article

ANDRADE JÚNIOR, Francisco Patricio de; CRUZ, José Henrique de Araújo; OLIVEIRA FILHO, Abrahão Alves de;

UFCG - BRASIL.

PRESENÇA DE RHODOTORULA EM AMBIENTE HOSPITALAR: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

PRESENCE OF RHODOTORULA IN HOSPITAL ENVIRONMENT: A SYSTEMATIC REVIEW

Página – 59

Artigo / Article

OLIVEIRA, D da S; SOUZA, W. D. de M.; SOUZA, L. D.; SANTOS, A G D; CALDEIRA, V. P. da S.

UERN, BRASIL.

APLICAÇÃO DAS ZEÓLITAS ZSM-5 E ZSM-12 (EM FORMA SÓDICA E AMONIACAL) NA ADSORÇÃO DE BÁRIO

APPLICATION OF ZSM-5 AND ZSM-12 ZEOLITES (IN SODIUM AND AMMONICAL FORMS) IN THE BARIUM ADSORPTION

Página – 74

PERIÓDICO TCHÊ QUÍMICA • www.periodico.tchequimica.com • Vol. 16 N. 31.
• ISSN 1806-0374 (impresso) • ISSN 1806-9827 (CD-ROM) • ISSN 2179-0302 (meio eletrônico)
© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Artigo / Article

CARVALHO, E. H. de S.; CUBA, R. M. F.; TERAN, F. J. C.

UFG, BRASIL.

REMOÇÃO DE CAFEÍNA POR CARVÃO ATIVADO DE BORRA DE CAFÉ COM ATIVAÇÃO ALTERNATIVA EM CÁPSULAS DE ALUMÍNIO

CAFFEINE REMOVAL BY ACTIVATED CARBON FROM COFFEE GROUNDS WITH ALTERNATIVE ACTIVATION IN ALUMINUM CAPSULES

Página – 84

Artigo / Article

CARVALHO, E. H. de S.; CUBA, R. M. F.; Carvalho, R. V. de; MARRA, E. G.

UFG, BRASIL

APLICAÇÃO DO PROCESSO DE ELETROCOAGULAÇÃO/FLOTAÇÃO PARA REUSO DE ÁGUA PLUVIAL

APPLICATION OF ELETROCOAGULATION / FLOTATION PROCESS FOR RAINWATER REUSE

Página – 89

Artigo / Article

ACOSTA, Byron; CIPRIANI-AVILA, Isabel

PUC - Ecuador.

DETERMINAÇÃO DE HIDROCARBONETOS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS (PAHS) EM AMOSTRAS AQUOSAS POR EXTRAÇÃO LIQUIDA-LÍQUIDA DE HPLC-FLD

DETERMINATION OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS (PAHS) IN AQUEOUS SAMPLES BY HPLC-FLD WITH SALTING-OUT LIQUID-LIQUID EXTRACTION

Página – 95

Artigo / Article

AMORIM, L.; DE MELO, S. L. S., DE PAIVA JÚNIOR, S. L. M.; DE DEUS, E. P.

UFCE, BRASIL.

CARACTERIZAÇÃO DE FIBRAS DE SISAL POR INFRAVERMELHO, UV-VIS POR REFLECTÂNCIA DIFUSA E MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

CHARACTERIZATION OF SISAL FIBERS BY INFRARED, UV-VIS DIFFUSE REFLECTANCE AND SCANNING ELECTRON MICROSCOPY

Página – 111

Artigo / Article

GRASEL, F. DOS S.; FLORES, B.; MEDEIROS, G.; LAUSCHNER, E. A.; SOUZA, A. F.; BARROS, C. G.

IFRS, BRASIL.

ESTUDO DA SUSTENTABILIDADE NA OBTENÇÃO DE NITRATO DE PRATA A PARTIR DE RESÍDUOS ANALÍTICOS

STUDY OF THE SUSTAINABILITY IN THE OBTAINMENT OF SILVER NITRATE FROM ANALYTICAL WASTE

Página – 126

Artigo / Article

ALVES, T. W. B.; ANDRADE JÚNIOR, F. P. d.; BARBOSA, V. S. de A.

UFCG. BRASIL.

A IMPORTÂNCIA DO CONTROLE DO VÍRUS DA RAIVA, SUA DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA, CICLO BIOLÓGICO, PATOGENIA E MEDIDAS PROFILÁTICAS: UMA REVISÃO.

THE IMPORTANCE OF RIVER VIRUS CONTROL, IT'S GEOGRAPHICAL DISTRIBUTION, BIOLOGICAL CYCLE, PATHOGENESIS AND PROPHYLATIC MEASURES: A REVIEW.

Página – 133

Artigo / Article

GULIYEVA, E. A.; GURBANOV, Z. H.; JABIYEV, Y. A.; SHEKILIYEV, F. I.; SULEIMANOV, G. Z.; ABBASOVA, T. A.

A. M. Nagiyev Inst. of Cata. and Ino. Chemistry of NAS Azerbaijan.

SÍNTESE DE CICLOCARBINOL E CICLOCARBINOLATO DERIVADOS DO CIANTRENO E SUA EFICÁCIA ANTIFUMOS PARA OS COMBUSTÍVEIS DIESEL

SYNTHESIS OF CYCLOCARBINOL AND CYCLOCARBINOLATE DERIVATIVES OF CYMANTRENE AND THEIR ANTI-SMOKE EFFECTIVENESS FOR DIESEL FUELS

Página – 147

Artigo / Article

ESATELLES, J. L.; BEZERRA DA SILVA, H. E.; FARIAS, L. R.; PANERO, F. dos S.

UFCG, BRASIL.

ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO DO TIMOL COM A ANFOTERICINA B CONTRA R*hizopus orizae*

STUDY OF THE ASSOCIATION OF TIMOL WITH ANFOTERICIN B AGAINST Rhizopus orizae

Página – 156

• ISSN 1806-0374 (impresso) • ISSN 1806-9827 (CD-ROM) • ISSN 2179-0302 (meio eletrônico)
© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Artigo / Article

LIMA, A. R.; SILVA, F. C. V. DA; SIMÕES NETO, J. E.

UFRPE, BRASIL.

ATIVIDADES EXPERIMENTAIS E ENSINO POR INVESTIGAÇÃO: PROPOSTA DE FORMAÇÃO CONTINUADA PARA PROFESSORES DE QUÍMICA

EXPERIMENTAL ACTIVITIES AND TEACHING BY INVESTIGATION: PROPOSED CONTINUED FORMATION OF CHEMISTY TEACHERS

Página – 164

Artigo / Article

NETO, Hermes Diniz, *et al.*.

UFPB, BRASIL.

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO CITRONELAL CONTRA Candida NÃO-albicans DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA EM PEDIATRIA

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF CITRONELLAL AGAINST Candida NON-albicans OF PEDIATRIC CLINICAL IMPORTANCE

Página – 186

Artigo / Article

SILVA, Michel Almeida da, *et all*.

UFCG, BRASIL.

DIAGNÓSTICO DO GERENCIAMENTO DOS RESÍDUOS SÓLIDOS PROVENIENTES DO MATADOURO PÚBLICO DO MUNICÍPIO DE POMBAL - PB

DIAGNOSIS OF THE MANAGEMENT OF SOLID WASTE FROM THE PUBLIC SLAUGHTERHOUSE OF THE MUNICIPALITY OF POMBAL-PB

Página – 210

Revisão / Review

BORGES, Mariana Fornazier

UFU, BRASIL.

INFLUÊNCIA DE ALGUNS PARÂMETROS NOS RESULTADOS DE ANÁLISES TÉRMICAS DO ÁLCOOL POLIVINÍLICO

INFLUENCE OF SOME PARAMETERS IN THE RESULTS OF THERMAL ANALYSIS OF POLYVINYL ALCOHOL

Página – 235

Artigo / Article

ANDRADE JÚNIOR, Francisco Patricio, *et al.*

UFCG , BRASIL.

ÓXIDO DE ETILENO COMO AGENTE ESTERILIZANTE: CARACTERÍSTICAS GERAIS, TOXICIDADE E COMPARAÇÃO COM OUTROS SANEANTES E MÉTODOS DE ESTERILIZAÇÃO

ETHYLENE OXIDE AS A STERILIZING AGENT: GENERAL CHARACTERISTICS, TOXICITY AND COMPARISON WITH OTHERS SANEANTES AND STERILIZATION METHODS

Página – 175

Artigo / Article

FENSTERSEIFER, Camila Rivaldo; BRAMBILLA, Rodrigo

UNISINOS - BRASKEM, BRASIL

COMPÓSITOS DE PEAD/DIATOMITA MODIFICADA COM GRUPOS METILSILANO: ANÁLISE DAS PROPRIEDADES TÉRMICAS E MECÂNICAS

HDPE/METHYLSILANE MODIFIED DIATOMITE COMPOSITES: ANALYSIS OF THERMAL AND MECHANICAL PROPERTIES

Página – 192

Artigo / Article

SILVA, Daniele dos Santos; YAMAGUCHI, Klenicy Kazumy de Lima

UFAM, BRASIL.

A QUÍMICA DOS MEDICAMENTOS E A AUTOMEDICAÇÃO ALIADOS AO ENSINO DE FUNÇÕES ORGÂNICAS

DRUG CHEMISTRY AND SELF-MEDICATION AWARENESS AS A TOOL IN TEACHING ORGANIC FUNCTIONS

Página – 223

Artigo / Article

TSAMPAIO, Jéssica S.; GELLEN, Luís F. A.; ALEXANDRE, Maria de A. C.

CEULP/ULBRA, BRASIL.

IDENTIFICAÇÃO DE *Cryptococcus neoformans* EM EXCRETAS DE Columba livia QUE FREQUENTAM O HOSPITAL PÚBLICO DE PALMAS – TO

IDENTIFICATION OF Cryptococcus neoformans IN EXTRACTORS OF Columba livia THAT FREQUENT THE PUBLIC HOSPITAL OF PALMAS - TO

Página – 242

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Artigo / Article

SILVA, P. D. Costa; SANTOS, Brenda L. C. dos; SOARES, G. L.; OLIVEIRA, Wylly A. de

UFCG, BRASIL.

ATIVIDADE ANTI-Candida albicans DA ASSOCIAÇÃO DO CITRONELAL COM A ANFOTERICINA B OU COM O CETOCONAZOL

ANTI-Candida albicans ACTIVITY OF THE ASSOCIATION OF CITRONELAL WITH ANFOTERICIN B OR WITH CETOCONAZOLE

Página - 250

Artigo / Article

Vladimir Ju. Frolov, Georgy G. Klasner, Denis P. Sysoev.

KSAU, RÚSSIA.

VALIDAÇÃO DO PROJETO E DOS PARÂMETROS PADRÕES DO MOEDOR DE GRÃOS ÚMIDOS DE PLANTAS LEGUMINOSAS (COMO EXEMPLO, O GRÃO DE SOJA)

SUBSTANTIATION OF DESIGN AND STANDARD PARAMETERS OF CHOPPER OF SOAKED GRAIN OF LEGUMINOUS PLANTS (AS AN EXAMPLE OF THE SOYA GRAIN)

Página – 258

Artigo / Article

SANTOS, B. L. C. dos; NASCIMENTO, A. K. Penha do; OLIVEIRA FILHO, A. Alves de; OLIVEIRA, Heloísa M. B. F. de

UFCG, BRASIL

ANÁLISE DOS EXAMES DE PERFIL GLICÊMICO E LIPÍDICO REALIZADOS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO ANA BEZERRA

EVALUATION OF THE GLYCEMIC AND LIPID PROFILE TEST PERFORMED AT THE ANA BEZERRA UNIVERSITY HOSPITAL

Página - 268

Artigo / Article

MARQUES, Luana; TASSINARY, João Alberto; Schmidtt, Bárbara, Bianchetti, Paula, Stülp, Simone

UNIVATES, BRASIL.

EFEITO DO ULTRASSOM TERAPÊUTICO NA LIBERAÇÃO E PERMEAÇÃO DE CAFEÍNA LIPOSSOMADA EM SISTEMA DE DIFUSÃO VERTICAL

EFFECT OF THERAPEUTIC ULTRASOUND IN THE RELEASE AND PERMEATION OF CAFFEINE LIPOSOMES IN VERTICAL DIFFUSION SYSTEMS

Página – 274

Artigo / Article

OLIVEIRA, R. J.; SANTOS, F. A.; MEDEIROS, H. Igor R.; SANTOS, C. Silva; FREITAS FILHO, J. Rufino; FREITAS, J. Carlo R.

UFCG, BRASIL

SÍNTESE E BIOENSAIO TOXICOLÓGICO DE ARILAMIDOXIMAS

SYNTHESIS AND TOXICOLOGICAL BIOASSAY OF ARYLAMIDOXIMES

Página - 281

Revisão / Review

MATTJE, Vanessa M.; PINHEIRO, A. R.; PEREIRA, D. Henrique

UFTO, BRASIL

ESTUDO TEÓRICO DA GEOMETRIA ESTRUTURAL E PROPRIEDADES ELETRÔNICAS DO DIBORETO DE MAGNÉSIO (MgB_2)

THEORETICAL STUDY OF STRUCTURAL GEOMETRY AND ELECTRONIC PROPERTIES OF MAGNESIUM DIBORETH (MgB_2)

Página – 301

Artigo / Article

KHASINA Eleonora

Kazakh N. P. U.. Republic of Kazakhstan

INFLUÊNCIA DA *PATRINIA SCABIOSIFOLIA* NA RESISTÊNCIA DE CAMUNDONGOS À VIBRAÇÃO DE CORPO INTEIRO

INFLUENCE OF PATRINIA SCABIOSIFOLIA ON THE RESISTANCE OF MICE TO WHOLE-BODY VIBRATION

Página - 308

Artigo / Article

USTYUGOVA, Natalia V.; POLYANSKAYA, Irina L.

Tyumen Industrial University, RUSSIA.

QUESTÕES RELATIVAS À REVISÃO DA EDUCAÇÃO DE ARQUITETOS E ENGENHEIROS AO ATINGIR O PADRÃOPROFISSIONAL

ISSUES OF REVISING THE APPROACH TO THE EDUCATION OF ARCHITECTS AND ENGINEERS WHEN MOVING TO A PROFESSIONAL STANDARD

Página – 315

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Artigo / Article

CASTRO, Douglas A.; PEREIRA, Douglas H.; LEAL, Paulo V. B.

UFT BRASIL..

ISOTERMA DE LANGMUIR: CONSIDERAÇÕES CINÉTICAS E DE EQUILÍBRIO

LANGMUIR ISOTHERM: KINETIC AND EQUILIBRIUM CONSIDERATIONS

Página – 324

Artigo / Article

SILVA, E. V. C.da; REIS, I. F. de A.; ALMEIDA, L.o das N. T. de; PRAZERES, A. R. dos; SILVA; J. B. da; OLIVEIRA, A. C. do S. de

UEPA, BRASIL.

QUALIDADE DE PÓLEN APÍCOLA DESIDRATADO

DEHYDRATED APICULTURE POLLEN QUALITY

Página – 335

Artigo / Article

SALVESTRINI, Stefano; AMBROSONE, Luigi; IOVINO, Pasquale; CAPASSO, Sante

Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli"; University of Molise, ITALY.

ALGUMAS OBSERVAÇÕES SOBRE O POTENCIAL QUÍMICO DE UM SISTEMA EM UM CAMPO EXTERNO

SOME REMARKS ON THE CHEMICAL POTENTIAL OF A SYSTEM IN AN EXTERNAL FIELD

Página - 341

Artigo / Article

DELGADO, Gerzon E.; MORA, Asiloé J.; GONZÁLEZ, Teresa; SANTOS, Iris; RIVAS, Pedro; SEIJAS, Luis E.

Universidad de Los Andes; Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, VENEZUELA

SÍNTESE LIVRE DE SOLVENTES E ESTRUTURA DE CRISTAL DE rac-2-TIOHIDANTOINA-VALINA

SOLVENT-FREE SYNTHESIS AND CRYSTAL STRUCTURE OF rac-2-THIOHYDANTOIN-VALINE

Página - 347

Artigo / Article

ALVES, Thiago Willame B.; ANDRADE JÚNIOR, Francisco Patricio de; BARBOSA,Vanessa Santos de Arruda

UFCG - BRASIL

SOROPREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO PARA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA EM ITAPORANGA-PB

SOROPREVALENCE AND RISK FACTRORS FOR CANINE VISCERAL LEISHMANIOSIS IN ITAPORANGA-PB

Página - 353

Artigo / Article

ROCHA, Paulo Alexandre Costa; SANTOS, Rogério Feliciano de Moura; LIMA, Ricardo José Pontes; SILVA, Maria Eugênia Vieira da

UFCE, BRASIL

UMA REVISÃO SOBRE NANOFLUIDOS: MÉTODOS DE PREPARAÇÃO E APLICAÇÕES

A REVIEW ON NANOFLUIDS: PREPARATION METHODS AND APPLICATIONS

Página – 365

Artigo / Article

KIZILÖZ, Burak

KOCAELI, WATER AND SEWERAGE ADMINISTRATION, TURKEY

INVESTIGAÇÃO DE ALGUNS AGENTES PERIGOSOS E TRAÇOS DE ELEMENTOS NA ÁGUA POTÁVEL DA REGIÃO DE KOCAELI

INVESTIGATION OF SOME HAZARDOUS AGENTS AND TRACE ELEMENTS IN DRINKING WATER OF KOCAELI REGION

Página - 381

Artigo / Article

SILVA, I. C. A.; FONSECA, J. C.; COIMBRA, M. C.; DUARTE-ALMEIDA, J. M.; LIMA, L. A. R. dos S.

UFSJ, BRASIL

TEOR TOTAL DE FENÓLICOS E FLAVONOIDES, ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E ALELOPÁTICA DOS EXTRATOS DOS FRUTOS VERDES DE Solanum lycocarpum

TOTAL PHENOL AND TOTAL FLAVONOID CONTENT, ANTIOXIDANT AND ALLELOPATHIC ACTIVITIES OF EXTRACTS OF THE UNRIPE FRUITS OF Solanum lycocarpum

Página – 390

• ISSN 1806-0374 (impresso) • ISSN 1806-9827 (CD-ROM) • ISSN 2179-0302 (meio eletrônico)
© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Artigo / Article

RODRIGUES, Caio H. P.; ASSIS, Victor O.; BRUNI, Aline T.;

USP, BRASIL

ESPECTROSCOPIA TEÓRICA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO: UMA ABORDAGEM DIDÁTICA

THEORETICAL SPECTROSCOPY IN THE INFRARED REGION: A DIDACTIC APPROACH

Página - 398

Artigo / Article

ALMEIDA, S. N. R.; MACHADO, É. C. M.; SILVA, M. A. da3; NOÉ, J. R.; ALMEIDA, R. R. P.

UFCG, BRASIL

APLICAÇÃO DE GEOPROCESSAMENTO NA IDENTIFICAÇÃO DE ÁREAS PARA IMPLANTAÇÃO DE ATERRO SANITÁRIO NO MUNICÍPIO DE POMBAL - PB

APPLICATION OF GEOPROCESSMENT IN THE IDENTIFICATION OF AREAS FOR IMPLANTATION OF SANITARY LANDING IN THE MUNICIPALITY OF POMBAL – PB

Página – 408

Artigo / Article

PINHEIRO, H. de A.; FERREIRA, A. P. M.; ALVES, I. C. B.; SANTOS JÚNIOR, A. F.; SAWCZUK, R. B. dos S.; VIEGAS, H. D. C.; MARQUES, A. L. B.; NUNES, G. S.

UFMA, BRASIL

DETERMINAÇÃO DE BTEX EM AMOSTRAS AMBIENTAIS: DESENVOLVIMENTO E PROTEÇÃO DAS TECNOLOGIAS E MÉTODOS ANALÍTICOS

DETERMINATION OF BTEX IN ENVIRONMENTAL SAMPLES: DEVELOPMENT AND PROTECTION OF TECHNOLOGIES AND ANALYTICAL METHODS

Página - 431

Artigo / Article

BOTELHO, T. I. M.; MONTEIRO JUNIOR, P. L.; DA SILVA, M. A. P. de S.; DA SILVA, R. B.; DO NASCIMENTO, A. S.

UFPA - BRASIL.

ANÁLISE DA VIABILIDADE TÉCNICA DO USO DA CARAPA GUIANENSIS (ÓLEO DA ANDIROBA) COMO FLUIDO DE CORTE NO PROCESSO DE TORNEAMENTO DE AÇOS ABNT 1020 E 1045

A TECHNICAL VIABILITY ANALYISIS OF USE OF THE CARAPA GUIANENSIS OIL (ANDIROBA OIL) AS CUTTING FLUID IN THE TURNING PROCESS OF THE ABNT 1020 AND 1045 STEEL GRADES

Página – 440

Artigo / Article

KUPATADZE,Ketevan; KIZILÖZ , Burak

ISU, GEORGIA; K.G.M., Water and Sewerage Administration, TURKEY

INVESTIGANDO ALGUNS DOS PARÂMETROS DO RIO KURA ("MTKVARI") EM DOIS PAÍSES VIZINHOS - GEÓRGIA E TURQUIA, EM TERMOS DE QUÍMICA AMBIENTAL

RESEARCHING SOME OF THE PARAMETERS OF KURA ("MTKVARI") RIVER IN TWO NEIGHBOURING COUNTRIES – GEORGIA AND TURKEY, IN TERMS OF ENVIRONMENTAL CHEMISTRY

Página - 450

Artigo / Article

Valerii A. S., Olga A. M., Evgeniy N. V., I K. K., Hanna S. P.

SSU, RUSSIA

FORMAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE DEPÓSITOS DE ÁGUA MINERAL DO TIPO INJEÇÃO COMO EXEMPLIFICADOS PELO CAMPO DE CHAPAEVSKOYE NO DISTRITO DE KORSAKOV DA REGIÃO DE SAKHALIN

FORMATION OF CHEMICAL COMPOSITION OF INJECTION-TYPE MINERAL WATER DEPOSITS AS EXEMPLIFIED BY CHAPAEVSKOYE FIELD IN KORSAKOV DISTRICT OF SAKHALIN REGION

Página – 457

Artigo / Article

Marina A. Derkho; Svetlana A. Gritsenko, Dmitriy S. Vilver, Tatiana I. Sereda, Natalia V. Fomina

South-Urals StateAgrarian University, RUSSIA.

PAPEL DO HORMÔNIO DA TIROIDE NO ESTADO METABÓLICO E FORMAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS ECONÔMICASBENÉFICAS EM LEITOAS DE REPOSIÇÃO DE RAÇAS DIFERENTES

THYROID HORMONE ROLE IN METABOLIC STATUS AND ECONOMIC BENEFICIAL FEATURES FORMATION IN REPLACEMENT GILTS OF DIFFERENT BREEDS

Página – 472

Artigo / Article

Irina A. L., Praskovya G. M., Nikolay I. Sidelnikov, Alexander S. Gulenkov

All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, RUSSIA.

ATIVIDADE ESPECÍFICA DO COMPLEXO BIOLÓGICO-ATIVO EM EXTRATOS DE DROGAS LÍQUIDOS DE ERVAS, ESTUDADAS EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE SECAGEM

SPECIFIC ACTIVITY OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPLEX IN LIQUID HERBAL DRUG EXTRACTS, STUDIED UNDER DIFFERENT DRYING CONDITIONS

Página – 484

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Artigo / Article

SANTOS, Mikaelly Nayara; DE SOUZA, E. Ferreira; FIORUCCI, Antonio Rogério; DA SILVA, Margarete Soares

UEMS, BRASIL

AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIOXIDANTE DA CURCUMINA DURANTE ESTOCAGEM DE BIODIESEL COMERCIAL PRODUZIDO COM ÓLEO DE SOJA E SEBO BOVINO

ASSESSMENT OF ANTIOXIDANT ACTION OF CURCUMIN DURING STORAGE OF COMMERCIAL BIODIESEL PRODUCED FROM SOYBEAN OIL AND BEEF TALLOW

Página - 491

Artigo / Article

CHIRINOS COLLANTES, Hugo David; LAZO CAMPOSANO, Roberto; PEREZ ALARCON,Renzo

UNC; UNI, PERU

AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA DAS EMISSÕES DE MOTORES DE GASOLINA COM CATALISADOR DE La2O3/Zn/Na

STATISTICAL EVALUATION OF GASOLINE ENGINE EMISSIONS WITH La2O3/Zn/Na CATALYST

Página – 517

Artigo / Article

Ivan I. Maksimov, Nail R. Adigamov, Anas A. Mustafin, Damir T. Khaliullin, Ilnar N. Gayaziev, Alexandr V. Matyashin, Ruslan R. Lukmanov

Chuvash State Agricultural Academy, RUSSIA

FUNDAMENTOS TEÓRICOS PARA A DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL DE EROSÃO DO SOLO (CONCEITO DE ENERGIA) PARTE 1

THEORETICAL FUNDAMENTALS FOR DETERMINING SOIL EROSION POTENTIAL (ENERGY CONCEPT) PART 1

Página – 540

Artigo / Article

S. V. Savina, V. M. Skorlyakov, D. A. Zayarskiy

Saratov State University , Russia.

SÍNTESE E ESTRUTURA DE ADJUVENTES ARTIFICIAIS PARA PREPARAÇÃO DE VACINAS SINTÉTICAS

SYNTHESIS AND STRUCTURE OF ARTIFICIAL ADJUVANT FOR PREPARATION OF SYNTHETIC VACCINES

Página – 565

Artigo / Article

POPOVA, Natalia Valentinovna; TRIFONOVA, Tatiana Anatolieva

VSU, RUSSIA; LMSU, RUSSIA

ANÁLISE DE NICHOS ECOLÓGICOS DE HORIZONTES ORGÂNICOS EM DIVERSOS ECOSSISTEMAS DE SOLO - FITOCENOSE

ANALYSIS OF ECOLOGICAL NICHES OF ORGANIC HORIZONS IN VARIOUS PHYTOCENOSIS-SOIL ECOSYSTEMS

Página – 503

Artigo / Article

Vladimir V. Vinokurov, Marina V. Vorontsova

Lomonosov Moscow State University, RUSSIA

ALQUIMIA NO MUNDO CONTEMPORÂNEO - *MAGNUM IGNOTUM*

ALCHEMY IN THE CONTEMPORARY WORLD – MAGNUM IGNOTUM

Página – 528

Artigo / Article

Kamalya Yunis-kyzy KUZNETSOVA, Olga Petrovna ZELYA, Zhanna Vyacheslavovna ZHNAKINA, Tamari Rezoevna MANIYA.

Sechenov University, RUSSIA.

PROBLEMAS DE AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA PARASÍTICA DA ÁGUA NAS FONTES USADAS PELA POPULAÇÃO

PROBLEMS OF PARASITIC SAFETY EVALUATION OF WATER IN SOURCES USED BY POPULATION

Página – 558

Artigo / Article

PIMENTA, Rafael Colombo; BACELLAR, Luís de Almeida Prado; RJEILLE, Milena Jorge; MOREIRA, Rubens Martins.

UFMG, BRASIL.

ESTADO DA ARTE SOBRE TRAÇADORES APLICADOS NA AVALIAÇÃO DE FUGAS DE ÁGUA EM BARRAGENS

STATE OF ART ABOUT TRACERS APPLIED IN THE EVALUATION OF WATER LEAKS IN DAMS

Página – 571

• ISSN 1806-0374 (impresso) • ISSN 1806-9827 (CD-ROM) • ISSN 2179-0302 (meio eletrônico)
© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Artigo / Article

Elena V. Dorskaia, Yuri A. Leykin, Sergei M. Pestov, Aleksei E. Kovalenko

DMU; MTU, Russia

EXTRAÇÃO DOS COMPONENTES DE PERFIL LIPÍDICO A PARTIR DO PLASMA ATRAVÉS DE VÁRIOS MÉTODOS DESORBENTES POLIMÉRICOS COM OS GRUPOS BASICOS AMÔNIO E FOSFÔNIO

EXTRACTION OF LIPID PROFILE COMPONENTS FROM PLASMA BY VARIOUS FORMS OF POLYMERIC SORBENTS WITH THE AMMONIUM AND PHOSPHONIUM BASE GROUPS

Página – 595

Artigo / Article

SOBREIRA, Ana Laura de Cabral; SOUSA, Ana Clara da Rocha; CARMO, Egberto Santos3; DA COSTA, Danielly Albuquerque

UFPB; UFCG, BRASIL

INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE Sida planicaulis Cav. (Malvaceae) frente FUNGOS FILAMENTOSOS

RESEARCH OF ANTIFUNGAL POTENTIAL OF Sida planicaulis Cav. (MALVACEAE) FUNGUS FILAMENTOSOS FRONT

Página – 607

Artigo / Article

FABRICIO, Daniel Antonio Kapper; TREVISAN, Lisiane; SARTORI, Cecília

IFSC; IFRS, BRASIL.

DESENVOLVIMENTO DE PADRÕES DE VERIFICAÇÃO PARA ESCALAS BRINELL E ROCKWELL NO ENSAIO DE DUREZA

DEVELOPMENT OF VERIFICATION STANDARDS FOR BRINELL AND ROCKWELL HARDNESS TESTS

Página – 616

Artigo / Article

LUNARDI, Willian G.; SIEGLOCH, Ana E.; RECH, Angela F.; MAFRA, Maria Sueli H.; KEMPKA, Aniela P.

UESC; UNIPLAC; EPAGRI, BRASIL

CONCENTRAÇÃO DE ALUMÍNIO, FERRO E MANGANÊS EM RIOS URBANOS LOCALIZADOS EM ÁREA DE ABRANGÊNCIADO AQUIFERO GUARANI EM LAGES - SC

CONCENTRATION OF ALUMINUM, IRON AND MANGANESE IN URBAN RIVERS LOCATED IN A COVERAGE AREA OF THE GUARANI AQUIFER IN LAGES - SC

Página – 622

Artigo / Article

ANDREYCHEV, Alexey; BOYAROVA, Ekaterina; LAPSHIN, Alexander; KUZNETSOV, Vyacheslav

NRMSU; CHERM, RUSSIA

IDENTIFICAÇÃO DE FOCOS DE TULAREMIA USANDO IMUNOENSAIO ENZIMÁTICO NAS PLUMADAS DE AVES PREDADORAS

DETECTION OF FOCI OF TULAREMIA USING ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE PREDATORY BIRD PELLETS

Página – 632

Artigo / Article

MARTINAZZI, D.; LEMOS, Guilherme V. B.; LANDELL, Renan M., BUZZATTI, Diogo T.; BRUSIUS, André; REGULY, Afonso

UFRGS, BRASIL.

ESTUDO PRELIMINAR SOBRE O EFEITO DA GEOMETRIA DO PINO NO PROCESSO DE SOLDAGEM FHPP ENTRE O FERRO FUNDIDO NODULAR FE55006 E O AÇO SAE 8620

PRELIMINARY STUDY ON EFFECT OF ROD GEOMETRY IN FHPP BETWEEN FE55006 NODULAR CAST IRON AND SAE 8620 STELL

Página – 642

Artigo / Article

COSTA JUNIOR, Gilberto Ferreira da; DA SILVA, Derly Oliveira; CARNEIRO, Wilsione José.

UFMG, BRASIL.

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAR A DISSOLUÇÃO DE CINARIZINA EM CÁPSULAS MAGISTRAIS

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF ANALYTICAL METHOD TO QUANTIFY THE DISSOLUTION OF CINARIZIN IN CAPSULES COMPOUNDED

Página – 650

Artigo / Article

MOREIRA, Lucy R. de Mª O.; SILVA, J. Botelho; FURTADO, Jethânia G. C., MARQUES; A. Lopes B., BEZERRA, Cícero W. Brito, MARQUES, Edmar P.

UFMA, BRASIL.

DETERMINAÇÃO VOLTAMETRICA DE Cu EM COMBUSTIVEL USANDO ELETRODO QUIMICAMENTE MODIFICADO POR SAIS DE TETRAZOLIOS

VOLTAMETRIC DETERMINATION OF Cu IN FUEL USING CHEMICALLY MODIFIED ELECTRODE BY TETRAZOLES

Página – 660

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Artigo / Article

RODRIGUES, A. Neri; ANDRADE, Izabela Cristina dos Santos; LEON, Carlos M. M. Ponce de

UFCG, BRASIL.

CONDIÇÕES ASSOCIADAS E PREDITORES ESPECÍFICOS DA SÍNDROME ANTIFOSFOLÍPIDE OBSTÉTRICA

ASSOCIATED CONDITIONS AND SPECIFIC PREDICTS OF OBSTETRIC ANTIFOSPHOLIPID SYNDROME

Página – 674

Artigo / Article

PEREIRA, Anna Clara Marinho; DOMINGOS, Ana Lisa Moreira; NOLETTO, Ana Paula Reis; REIS, Arlete Barbosa

CETEA/ITAL; UFVJM, BRASIL.

INVESTIGAÇÃO EXPERIMENTAL SOBRE CORANTES NATURAIS / REVESTIMENTOS DE QUITOSANA APLICADOS EM EMBALAGEM CELULÓSICA

EXPERIMENTAL RESEARCH ON NATURAL COLORS / COATINGS OF CHITOSAN APPLIED IN CELLULOSIC PACKAGING

Página – 680

Artigo / Article

HAAS, Aline; VAZ, Cleiton; KEMPKA, Aniela Pinto

UDESC, BRASIL.

EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE PEROXIDASES DE VEGETAIS: UMA REVISÃO

EXTRACTION AND PURIFICATION OF VEGETABLE PEROXIDASE: A REVIEW

Página – 692

Artigo / Article

RAMOS, Q., MOREIRA DE ALMEIDA, Sheylla S., AMARAL, Ana C. F., MAIA DA COSTA, Marcelo, DA FONSECA FILHO, Henrique

UEAM; PUCRJ; UFMA, BRASIL

FT-RAMAN E GC/MS DE EXTRADO E CERAS EPICUTICULARES DAS FOLHAS DE ANACARDIUM OCCIDENTALE L. DA AMAZÔNIA

FT-RAMAN AND GC/MS OF EXTRACT AND EPICUTICULAR WAXES OF ANACARDIUM OCCIDENTALE L. LEAVES FROM AMAZON.

Página – 704

Artigo / Article

SVATOVSKAYA, Larisa B.

PGUPS, RUSSIA.

APLICAÇÃO DE SOL DE SÍLICA NA GEO-CONSTRUÇÃO

SILICA SOL APPLICATION IN GEOCONSTRUCTION

Página – 711

Artigo / Article

Aysel S. Veliyeva, Irina A. Kadnikova, Tatyana K. Kalenik

Far Eastern Federal University, RUSSIA.

UTILIZAÇÃO DO EXTRATO DE ASTAXANTINA NA TECNOLOGIA DA PRODUÇÃO DE SALSICHAS COZIDAS COM BAIXO CONTEÚDO DE NITRITO DE SÓDIO

ASTAXANTHIN EXTRACT UTILIZATION IN THE TECHNOLOGY OF PRODUCING COOKED SAUSAGES WITH A LOW CONTENT OF SODIUM NITRITE

Página – 719

Artigo / Article

D. Troshkina, Y. A. Obruchnikova, O. A. Zhukova (Veselova), S. M. Pestov

DMUCT; MTU, RUSSIA.

CINÉTICA DA IMPREGNAÇÃO DE POLÍMEROS POR TRIALQUILAMINA

KINETICS OF POLYMER CARRIER IMPREGNATION BY TRIALKYLAMINE

Página – 729

Artigo / Article

Sergey S. Maslennikov, Olga V. Selitskaya, Dmitry V. Snegirev

RSAU, RUSSIA

AVALIAÇÃO DA PESQUISA DAS ATIVIDADES LIGNINOLÍTICAS E CELULÓLICAS DE ESTIRPES DE FUNGOS BASÍDIOS E DESENVOLVIMENTO DE VARIEDADES COM ALTO POTENCIAL CATALISADOR PARA A FERMENTAÇÃO DE RESÍDUOS DEAGRONEGÓCIOS "BIOVEL"

SCREENING ASSESSMENT OF LIGNINOLYTIC AND CELLULOLYTIC ACTIVITY OF BASIDIUM FUNGI STRAINS AND DEVELOPMENT OF STRAINS WITH HIGH POTENTIAL FOR WASTE FERMENTATION CATALYST APC "BIOVEL-FARMER"

Página – 738

• ISSN 1806-0374 (impresso) • ISSN 1806-9827 (CD-ROM) • ISSN 2179-0302 (meio eletrônico)
© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Artigo / Article

FERNANDEZ-MAESTRE, Roberto; MARRUGO-GONZÁLEZ Alonso J.

UC, COLOMBIA

PROPRIEDADES DA BASE ÁCIDA DE CETONAS NÃO SATURADAS OBTIDAS DA REACÇÃO DA 5-FORMIL-8-HIDROXIQUINOLINA COM ACETOFENONAS P-SUBSTITUÍDAS

ACID-BASE PROPERTIES OF -UNSATURATED KETONES OBTAINED FROM REACTION OF 5-FORMYL-8-HYDROXYQUINOLINE WITH P-SUBSTITUTED ACETOPHENONES

Página – 755

Artigo / Article

FERNANDEZ-MAESTRE, Roberto; MARRUGO-GONZÁLEZ Alonso J.

UC, COLOMBIA

5-ACETIL-8-HIDROXIQUINOLINA E 5-FORMIL-8-HIDROXIQUINOLINA: AGENTES CHELANTES PARA TITULAÇÕES COMPLEXOMÉTRICAS

5-ACETYL-8-HYDROXYQUINOLINE AND 5-FORMYL-8-HYDROXYQUINOLINE: CHELATING AGENTS FOR COMPLEXOMETRIC TITRATIONS

Página – 765

Artigo / Article

KLUNK, Marcos Antonio; DASGUPTA, Sudipta; NUNES, Bruno Vinicius Gomes; WANDER, Paulo Roberto

Unisinos, BRASIL; IIT Bombay, INDIA

SÍNTESE DE ZEÓLITA SODALITA PARA TRATAMENTO DE EFLUENTES TÊXTEIS

SYNTHESIS OF SODALITE ZEOLITE TO TREATMENT OF TEXTILE EFFLUENTS

Página – 778

Artigo / Article

KUPATADZE, Ketevan

Ilia State University, GEORGIA

A HISTÓRIA DA QUÍMICA E O DESENVOLVIMENTO DE FARMÁCIA NA GEÓRGIA ANTIGA E MEDIEVAL

THE HISTORY OF CHEMISTRY AND PHARMACY DEVELOPMENT IN EARLY AND MEDIEVAL GEORGIA

Página – 784

Artigo / Article

TARKHANOVA, Olga V.; KUSHAKOVA, Nelli P.

Tyumen Industrial University, RUSSIA.

SOBRE A ADOÇÃO DA TECNOLOGIA BIM NO PROCESSO EDUCACIONAL DO ENSINO DA ENGENHARIA CIVIL

ON THE ADOPTION OF BIM-TECHNOLOGY IN THE EDUCATIONAL PROCESS OF TEACHING CIVIL ENGINEERS

Página – 791

Artigo / Article

KHAIRULLINA, Larisa B.; MAMAEVA, Natali L.; FILIPOVSKAYA, Olga I.; MAKHNEVA, Arina N.; TELUSHKINA, Tatiana Yu.

Tyumen Industrial University, RUSSIA.

RACIOCÍNIO DE ENGENHARIA E MEIOS DE INTRODUÇÃO EM ESTUDANTES DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO SUPERIOR

ENGINEERING THINKING AND WAYS TO FORM IT IN STUDENTS OF HIGHER EDUCATIONAL INSTITUTIONS

Página – 800

Artigo / Article

SHIGALUGOV, Stanislav H.; TYURIN, Yuriy I.; BOROVITSKAYA, Anna O.; DUBROV, Dmitriy V.

NSII; TPU, RUSSIA

INSTALAÇÃO EXPERIMENTAL PARA PESQUISA DA EXCITAÇÃO LUMINESCENTE DO FÓSFORO, ESTIMULAÇÃO EEXTINÇÃO POR FEIXES ATÔMICOS E MOLECULARES

EXPERIMENTAL INSTALLATION FOR RESEARCH OF PHOSPHORS LUMINESCENCE EXCITATION, STIMULATION AND EXTINGUISHING BY ATOMIC AND MOLECULAR BEAMS

Página – 809

Artigo / Article

KLUNK, Marcos A.; DASGUPTA, Sudipta; SCHRÖPFER, Suellen Brasil; NUNES, Bruno Vinicius Gomes; WANDER, Paulo Roberto

Unisinos, BRASIL; IIT Bombay, INDIA

ESTUDO COMPARATIVO DA MODELAGEM GEOQUÍMICA DE ESPECIAÇÃO UTILIZANDO O SOFTWARE GEODELING

COMPARATIVE STUDY OF GEOCHEMICAL SPECIATION MODELING USING GEODELING SOFTWARE

Página – 816

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Artigo / Article

MAKAROVA, Oksana A.; MINAKHMETOVA, Albina Z.; PYANOVA, Ekaterina N.; PANFILOV, Alexey N.; SHAGIVALEEVA, Guzalia R.

Kazan Federal University, RUSSIA

INTER-RELAÇÃO ENTRE A ESTABILIDADE PSICOEMOCIONAL E A FORÇA OU A FRAQUEZA DO SISTEMA NERVOSO NOASPECTO DA OCUPAÇÃO PROFISSIONAL DE OPERADORES DE PRODUÇÃO CONTÍNUA DE FIBRA DE VIDRO

INTERRELATION OF PSYCHOEMOTIONAL STABILITY AND STRENGTH OR WEAKNESS OF NERVOUS SYSTEM IN THE ASPECT OF PROFESSIONAL OCCUPATION OF GLASS FIBER CONTINUOUS PRODUCTION OPERATORS

Página – 823

Artigo / Article

MAKAROVA, Oksana A.; MINAKHMETOVA, Albina Z.; PYANOVA, DAL CORNO, Renata De B.; AVER, Gustavo Francisco; PETRY, Maria Virginia

UCS; UNISSINOS, BRASIL.

SUCESSO REPRODUTIVO DE CURICACA (Theristicus caudatus) (PELECANIFORMES: THRESKIORNITHIDAE) NO PLANALTO DAS ARAUCÁRIAS, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL.

BREEDING SUCCESS OF BUFF-NECKED IBIS (Theristicus caudatus) (PELECANIFORMES: THRESKIORNITHIDAE) IN ARAUCARIA PLATEAU, RIO GRANDE DO SUL, BRAZIL.

Página – 831

Artigo / Article

LEBEDEV, Andrey B.; UTKOV, Vladimir A.; KAYGORODOVA, Olga A.; KADYROV, Marsel A.

Saint-Petersburg M. Uni., RUSSIA

UTILIZAÇÃO DA LAMA VERMELHA DA INDÚSTRIA DE ALUMINA NA GRANULAÇÃO DA ESCÓRIA FUNDIDA DE ALTOFORNO CONTENDO ENXOFRE

USE OF DUMPED RED MUD OF ALUMINA INDUSTRY AT GRANULATION OF THE MOLTEN SULFUR-CONTAINING BLAST FURNACE SLAG.

Página – 837

Artigo / Article

PEREIRA, M. G. A.; SILVA, A. Alex de L.; MATIAS, Luiz G. de O.; CALDEIRA, V. P. da S.; SANTOS, Anne G. Dias; SOUZA, Luiz Di

UERN, BRASIL.

APLICAÇÃO DO CATALISADOR KI-MCM-41 NA REAÇÃO DE ESTERIFICAÇÃO DO ÓLEO DE OITICICA (*licania rigida Benth*)

APPLICATION OF THE CATALYST KI-MCM-41 IN THE OTERTIC OIL ESTERIFICATION REACTION (licania rigida Benth)

Página – 846

Artigo / Article

NASCIMENTO, Jacson M.; BARROS, Regiane S.; KONNO, Camila Y.; SILVA, Adrina P.; ROCHA, Otávio; MOREIRA, Antônio S.

UFPA, BRASIL

ANÁLISE DA USINABILIDADE DA LIGA AL-1,2%Pb SOLIDIFICADA EM UM DISPOSITIVO DIRECIONAL HORIZONTAL

MACHINABILITY ANALYSIS OF AN AL-1,2% Pb ALLOY SOLIDIFIED IN A HORIZONTAL DIRECTIONAL DEVICE

Página – 860

Artigo / Article

FLORES-CRUZ, Jesus A; DELGADO, Gerzon E.; JAMALIS, Joazaizulfazli; HENAO, José A.

IPN, MÉXICO; ULA, VENEZUELA; UTM, MALAYSIA; UIS, COLOMBIA

ÁCIDO MALÔNICO (1:1) COMPLEXO MOLECULAR DE 2-AMINOPIRIDINA: ESTRUTURA DE CRISTAL E ANÁLISE DE SUPERFÍCIE DE HIRSHFELD

MALONIC ACID (1:1) 2-AMINOPYRIDINE MOLECULAR COMPLEX: CRYSTAL STRUCTURE AND HIRSHFELD SURFACE ANALYSIS

Página - 875

Artigo / Article

PIRES, Edjane Vieira ; DE CARVALHO, C. Monteiro; DA COSTA, João Gomes; PIRES, G. de Alameida; DA SILVA, Erika Matias

UEA; EFA; EMBRAPA, UESBH, BRASIL

USO DE PLANEJAMENTO FATORIAL PARA AVALIAR O NÍVEL DE GERMINAÇÃO DE L. sativa E L. esculentum FRENTE A DUAS PLANTAS MEDICINAIS

USO OF FACTOR PLANNING TO EVALUATE THE LEVEL OF GERMINATION OF L. sativa and L. esculentum FRONT OF TWO MEDICINAL PLANTSITLE IN CAPITAL

Página – 884

Artigo / Article

Safonov V.A., Danilova V.N., Ermakov V.V., Vorobyov V.I.

IGACRAS; ASU, RUSSIA

MERCÚRIO E METILMERCURIO EM ÁGUAS SUPERFICIAIS DE REGIÕES ÁRIDAS E ÚMIDAS E O PAPEL DOS ÁCIDOS HUMICOS NA MIGRAÇÃO DO MERCÚRIO

MERCURY AND METHYLMERCURY IN SURFACE WATERS OF ARID AND HUMID REGIONS, AND THE ROLE OF HUMIC ACIDS IN MERCURY MIGRATION

Página – 892

• ISSN 1806-0374 (impresso) • ISSN 1806-9827 (CD-ROM) • ISSN 2179-0302 (meio eletrônico)
© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Artigo / Article

GUSAROVA, Miroslava S.; KOPYTOVA, Anna V.; RESHETNIKOVA, Irina G.

Tyumen Industrial University, RUSSIA.

FORMAÇÃO DE COMPETÊNCIAS DE LIDERANÇA DO ENGENHEIRO CIVIL RUSSO MODERNO NO PROCESSO EDUCACIONAL

FORMATION OF LEADERSHIP COMPETENCIES OF MODERN RUSSIAN CIVIL ENGINEER IN THE EDUCATIONAL PROCESS

Página – 903

Artigo / Article

KADYROV, Adil S.; AMANGELDIEV, Nariman E.

Karaganda State Technical University,Kazakhstan

NOVAS ESPECIFICAÇÕES DA TEORIA DE CORTE DO SOLO

NEW SPECIFICATIONS OF THE THEORY OF GROUND CUTTING

Página – 922

Author instructions - 937

Final pages - 942

Artigo / Article

MINNULLINA, Anna Yu.; KOPYTOVA, Anna V.

Tyumen Industrial University, RUSSIA.

JOGO COMO UMA FERRAMENTA DE CONTROLE INTERMEDIÁRIO DO CONHECIMENTO DOS ALUNOS

GAME AS A TOOL OF MIDTERM CONTROL OF STUDENTS' KNOWLEDGE

Página – 913

Artigo / Article

LIMA, Francisco José Santos; SILVA, Jean Lucas Carvalho da e SILVA, Ademir Oliveira da

UFRN, BRASIL.

MODELAGEM MOLECULAR E AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES TÉRMICAS, CONDUTIMÉTRICAS E ESPECTRAIS DO ÁCIDO MALEICO PARA APLICAÇÃO EM SISTEMAS QUÍMICOS PROMISSORES

MOLECULAR MODELING AND EVALUATION OF THERMAL, CONDUTIMETRIC AND SPECTRUM PROPERTIES OF ACID MALEIC FOR APPLICATION IN PROMISSORY CHEMICAL SYSTEMS

Página – 937

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

NOTICE, NEW PUBLISHING TEMPLATE AVAILABLE.

Dear Authors, after more than 10 years we have done a new template for the Journal. Please find the new template at the Journal's download section. The use of the new template is mandatory for the next issues of the Journal.

Thank you all. Editorial team.

January, 2019.

• ISSN 1806-0374 (impresso) • ISSN 1806-9827 (CD-ROM) • ISSN 2179-0302 (meio eletrônico)
© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DA ASSOCIAÇÃO DO CARVACROL COM A ANFOTERICINA B OU COM O CETOCONAZOL

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF THE ASSOCIATION OF CARVACROL WITH AMPHOTERICIN B OR WITH KETOCONAZOLE

SOARES, Gustavo Lima*[1]; SANTOS, Brenda Lavínia Calixto dos [2]; LUZ, Brenna Ravena Araújo[3]; OLIVEIRA, Wylly Araújo de[4]

[1,2,3,4] Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, Unidade Acadêmica de Saúde, Sítio Olho D'água da Bica, S/Nº, Cep 58175-000, Cuité - PB, Brasil
(fone; +55 83 3372 1900)

** Autor correspondente*
e-mail: gustavolmsr@gmail.com

Received 20 April 2018; received in revised form 23 April 2018; accepted 24 April 2018

RESUMO

Espécies de *Aspergillus* são causa de um elevado número de infecções fúngicas de difícil tratamento, apresentando expressivo número de óbitos devido complicações nos quadros severos de infecção. O objetivo foi avaliar a ação antifúngica do carvacrol contra espécies de *Aspergillus*, assim como avaliar as interações quando associado com a anfotericina B ou com o cetoconazol. A atividade antifúngica do carvacrol foi avaliada pelo método da microdiluição em caldo. As combinações das substâncias foram realizadas pela metodologia do checkerboard, para determinação do Índice da Concentração Inibitória Fracionada. O carvacrol apresentou atividade antifúngica contra todas as cepas de *Aspergillus* utilizadas nos ensaios. Nas associações das substâncias apenas uma combinação do carvacrol com a anfotericina B apresentou resultado satisfatório. As combinações do carvacrol com o cetoconazol não demonstraram bons resultados. Conclui-se que o carvacrol é um bom candidato a fármaco antifúngico devido sua boa atividade contra *Aspergillus* demonstrada no presente estudo, assim como em outros trabalhos na literatura. Sua combinação *in vitro* com a anfotericina B ou com o cetoconazol não apresentaram vantagens frente à utilização isolada dos antifúngicos.

Palavras-chave: *Aspergillus; Antifúngicos; Óleo essencial; Combinação.*

ABSTRACT

Aspergillus species are a cause of a high number of fungal infections of difficult treatment, presenting an expressive number of deaths due to the complications in the severe cases of infection. The objective was to evaluate the antifungal action of carvacrol against *Aspergillus* species, as well as to evaluate the interactions when associated with amphotericin B or ketoconazole. The antifungal activity of carvacrol was evaluated by the broth microdilution method. The combinations of the substances were performed by the checkerboard methodology, to determine the Index of Fractional Inhibitory Concentration. Carvacrol showed antifungal activity against all *Aspergillus* strains used in the trials. In combinations of substances, only a combination of carvacrol and amphotericin B presented satisfactory results. Combinations of carvacrol and ketoconazole have not shown good. It is concluded that carvacrol is a good candidate for the antifungal drug because of its good activity against *Aspergillus* demonstrated in the present study, as well as in other studies in the literature. Their combination *in vitro* with amphotericin B or ketoconazole did not present any advantages over the use of antifungal drugs alone.

Keywords: *Aspergillus; Antifungals; Essential oil; Combination.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

Os microorganismos do gênero *Aspergillus* são fungos aéreos amplamente distribuídos. Tais microorganismos são documentados como causa de quadros simples de síndromes alérgicas, porém podem ser causa de casos mais graves como infecções oportunistas invasivas (Vermeulen *et al*., 2014). As infecções invasivas por *Aspergillus* representam as maiores taxas de morbidade e mortalidade entre pacientes severamente imunocomprometidos (Steinbach *et al*., 2012).

Espécies do gênero são relatadas como causa de infecções pulmonares (Borges *et al*., 2016), aspergilose broncopulmonar alérgica, aspergilose pulmonar crônica, sinusite (Fortún *et al*., 2012) e osteomelite em pacientes imunodeprimidos (Gomes *et al*., 2013). Embora escassos casos de pacientes imunocompetentes que adquiriram a aspergilose invasiva também são relatados (Asare *et al*., 2013). *Aspergillus fumigatus* é documentada uma das espécies mais envolvidas em casos de acometimento de pacientes imunocomprometidos, considerada a principal espécie causadora de aspergilose invasiva, sendo responsável por 50 a 90 % dos casos (Gibbons e Rokas, 2013).

O gênero *Aspergillus* utiliza de diversos mecanismos de virulência. O entendimento de tais mecanismos é fundamental no desenvolvimento de estratégias de investigação para combater as infecções causadas por estes fungos, assim como tratamentos eficazes. Os principais fatores de virulência são relacionados à estrutura fúngica, à libertação de proteases e aos alérgenos. Entretanto, mecanismos utilizados pelo fungo para se evadir do reconhecimento imunológico também são considerados importantes no estabelecimento da infecção (Chotirmall, *et al*., 2014). As micotoxinas são importantes metabólitos produzidos por *Aspergillus* no processo de contaminação em alimentos. Quando ingeridas frequentemente podem induzir problemas nefrótóxicos e carcinogênicos (Garmendia e Vero, 2016).

O uso recorrente dos agentes antifúngicos desperta preocupações devido à seleção de cepas resistentes (Sahu *et al*., 2013; Srinivasan *et al*., 2014). Os triazóis são o pilar do tratamento da aspergilose, embora a resistência a esses agentes antifúngicos possa estar associada à ineficiências nos tratamentos. Infecções refratárias muitas vezes exigem uma mudança para outros agentes antifúngicos (Kano *et al*., 2016). A anfotericina B é também frequentemente utilizada para o tratamento da aspergilose (Fortún *et al*., 2012).

Novas alternativas para o controle de infecções fúngicas tem sido buscadas atualmente, sobretudo frente aos insucessos nos tratamentos com antifúngicos convencionais, devido ao surgimento de resistência pelos fungos. Novas perspectivas envolvem o uso de produtos obtidos de origem natural com atividade antimicrobiana (Castro e Lima, 2011).

A pesquisa de novas moléculas com potencial de atividade biológica surge como importante ferramenta terapêutica, permitindo tanto explorar novos alvos terapêuticos, como propor novas formas de atuar sobre alvos terapêuticos já estabelecidos (Fuentefria *et al*., 2016). Recentemente, tem-se buscado utilizar os óleos essenciais ou seus constituintes isolados para o tratamento de infecções fúngicas (Pekmezovic *et al*., 2015).

O objetivo deste estudo foi avaliar a ação antifúngica do carvacrol contra espécies de *Aspergillus*, assim como avaliar sua interação quando associado com a anfotericina B ou com o cetoconazol.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Determinação da Concentração Inibitória Mínima

Para realização dos testes foram utilizadas nove cepas fúngicas de *Aspergillus*: *A. flavus* LM-26, *A. flavus* LM-3, *A. flavus* LM-247, *A. flavus* LM-210, *A. flavus* LM-2, *A. flavus* ATCC-13013, *A. fumigatus* ATCC-46913, *A. fumigatus* ATCC-16913, *A. fumigatus* IPP-210.

A determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi realizada pela técnica da microdiluição em caldo, utilizando como meio o caldo sabouraud dextrose (Castro e Lima, 2011; Cortez *et al*., 2015). O inóculo fúngico foi preparado contendo aproximadamente 1-5 x 10^6 conídios/mL, com o auxílio do hemocitômetro (Abbaszadeh *et al*., 2014). A concentração inicial do carvacrol testada foi 1024 µg/mL e diluída seriadamente 1:2 até a concentração final de 8 µg/mL. As concentrações iniciais da anfotericina B e do cetoconazol foram de 1024 µg/mL e diluídas seriadamente 1:2 até a concentração

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

final de 1 µg/mL.

Os experimentos foram conduzidos com inóculo contendo 1-5 x 10^5 conídios/mL em cada cavidade da placa de microdiluição. As soluções foram preparadas com o auxílio de DMSO (dimetilsulfóxido). Controles positivos com DMSO nas mesmas concentrações utilizadas no teste foram realizados.

Os ensaios foram incubados, em estufa a aproximadamente 35 °C, durante 48 horas. Foi considerada como CIM, a menor concentração da substância testada capaz de produzir inibição visual do crescimento das cepas fúngicas utilizadas nos ensaios microbiológicos (CLSI, 2008).

2.2. Associação das substâncias

Para realização da associação do carvacrol com a anfotericina B ou com o cetoconazol foram preparadas, separadamente, diferentes soluções do carvacrol e dos antifúngicos nas concentrações de CIMx8, CIMx4, CIMx2, CIM, CIM/2, CIM/4 e CIM/8.

O estudo das associações foi realizado pela técnica do checkerboard para determinação do Índice da Concentração Inibitória Fracionada (ICIF), utilizando placas estéreis de microdiluição com 96 cavidades. As soluções foram distribuídas na placa de forma que todas as concentrações da substância A (carvacrol), na horizontal, combinassem com todas as concentrações da substância B (anfotericina B ou cetoconazol), na vertical.

O experimento da associação foi conduzido com inóculo contendo aproximadamente 1-5 x 10^5 conídios/mL em cada cavidade. Para realização das associações foram utilizadas duas cepas fúngicas de *Aspergillus*.

Os ensaios foram incubados em estufa, a 35 °C, por 48 horas e após esse período foi determinada a CIM da associação.

O ICIF foi calculado através da equação; ICIF = CIF^A + CIF^B. Onde Concentração Inibitória Fracionária^A (CIF^A) foi calculado pela relação; CIM^A combinado/CIM^A sozinho, enquanto que o CIF^B = CIM^B combinado/CIM^B sozinho (Hemaiswarya *et al*., 2008; Silva *et al*., 2011). Sendo A o carvacrol, e B a anfotericina ou o cetoconazol.

O ICIF foi classificado da seguinte forma: sinergismo (≤0,5), indiferença (>0,5<4) e antagonismo (≥ 4) (Hemaiswarya *et al*., 2008; Silva *et al*., 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que o carvacrol apresentou atividade antifúngica contra todas as cepas de *Aspergillus* utilizadas no ensaio, sendo observados alguns resultados com ação mais eficaz que o cetoconazol. O cetoconazol e a anfotericina B inibiram o crescimento de todas as cepas (Tabela 1).

A associação do carvacrol com a anfotericina B contra *A. flavus* ATCC-13013 apresentou sinergismo, porém o mesmo resultado não foi observado na mesma associação contra *A. fumigatus* ATCC-16913 (Tabela 2). As associações do carvacrol com o cetoconazol contra *A. flavus* ATCC-13013 e *A. fumigatus* ATCC-16913 foram indiferente e antagônica, respectivamente (Tabela 3).

O carvacrol (5-isopropil-2-metilfenol) juntamente com o timol (2-isopropil-5-metilfenol) são os constituintes majoritários dos óleos essenciais de alguns exemplares da família Laminaceae, como orégano (*Origanum vulgare*) e o tomilho (*Thymus vulgaris*), sendo sintetizados por essas espécies como uma ferramenta de defesa química contra a ação de microorganismos fitopatogênicos (Numpaque *et al*., 2011). Desse modo, a eficácia antifúngica *in vitro* do carvacrol possa ser decorrente dessa finalidade.

Os óleos essenciais juntamente com seus constituintes isolados, a exemplo do carvacrol, são comumente relatados apresentando atividade antifúngica contra uma ampla gama de fungos (Numpaque *et al*., 2011; Simović *et al*., 2014). Tal atividade pode ser utilizada como uma alternativa mais segura aos fármacos convencionais (Simović *et al*., 2014).

Em concordância com as concentrações inibitórias encontradas no presente estudo, Abbaszadeh *et al*. (2014) apontam a atividade antifúngica do carvacrol contra *A. flavus* e *A. fumigatus*, obtendo CIM igual a 100 µg/mL.

A atividade antifúngica do carvacrol é relacionada, por diversos autores, com a sua capacidade de atuar na membrana celular

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

fúngica causando um desequilíbrio iônico e omeostático acarretando no colapso e morte celular (Numpaque *et al*., 2011; Simović *et al*., 2014).

Há um desequilíbrio entre o número de novos antifúngicos encontrados e o surgimento de resistência fúngica. Tal fato tem incentivado diversos ensaios *in vitro* da combinação de antifúngicos. Relatos de associações sinérgicas demonstram vantagens frente a monoterapia, tais como; aumento no espectro e na potência da atividade da substância, redução de doses de substâncias tóxicas e redução do risco de surgimento de resistência. Por outro lado, uma interação antagônica da associação de substâncias antifúngicas pode aumentar o risco de toxicidade e diminuir a atividade antifúngica das substâncias. Desse modo, é de grande importância para a prática clínica a determinação da interação antagônica *in vitro* entre agentes antifúngicos (Campitelli *et al*., 2017).

Apesar da busca por atividade sinérgica de associações de antifúngicos, alguns estudos relatam interações divergentes nas associações *in vitro* das substâncias, variando de efeito sinérgico ao antagonismo (Martín-Peña *et al*., 2014; Campitelli *et al*., 2017).

Os resultados encontrados no presente ensaio estão de acordo com a literatura. Estudos têm apontado associação de substâncias de origem natural, como os óleos essenciais, com a anfotericina B sendo observada atividade sinérgica. Em seu estudo El-Ahmady *et al*. (2013) realizou a associação da anfotericina B com óleo essencial de tomilho contra *Aspergillus*, indicando atividade sinérgica na associação das substâncias, assim como também efeito aditivo. Mahboubi *e* Bidgoli (2010) indicaram atividade sinérgica na associação do óleo essencial de *Myrtus communis* com a anfotericina B, contra *Aspergillus* e *Candida albicans.*

Freitas *et al*. (2013) realizaram a combinação do carvacrol com antifúgicos, por metodologia diferente da adotada em nosso trabalho, demonstrando atividade indiferente na combinação do carvacrol com a anfotricina B. A combinação do carvacrol com a nistatina apresentou atividade semelhante, pois a atividade das substâncias associadas permaneceu a mesma de quando utilizadas isoladamente. Em contrapartida a associação do carvacrol com o benzoilmetronidazol demonstrou que a CIM do benzoilmetronidazol foi elevada em oito vezes quando comparada com a sua CIM isolada, considerada combinação antagônica.

CONCLUSÕES

Os resultados encontrados no presente estudo demonstraram que o carvacrol é um promissor candidato a fármaco antifúngico. Sua combinação com a anfotericina B, assim como demonstrada por outros estudos, pode ser uma alternativa futura no combate das infecções por *Aspergillus*. Enquanto que o resultado da sua associação com o cetoconazol não apresentou vantagens frente à monoterapia.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a UFCG – Campus Cuité – pelo suporte para realização dos experimentos.

O presente trabalho foi realizado com apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil.

REFERÊNCIAS

1. Asare, K. A.; Jahng, M.; Pincus, J. L.; Massie, C.; Leea, S. A. Med. Mycol. Case, 2013, 2, 6.

2. Borges, C. T. S.; Travassos, V. A.; Figueiredo, L. C.; Dragosavac, D.; Faez, D. C. S.; Passos, A. I. M. Rev. Bras. Promoç. Saúde, 2016, 29, 107.

3. Castro, R. D.; Lima, E. O. Rev. Bras. Plantas Med, 2011, 13, 203.

4. Chotirmall, S. H.; Mirkovic, B.; Lavelle, G. M.; Mcelvaney, N. G. Mycopathologia, 2014, 178, 363.

5. Clinical and Laboratory Standards Institute- CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved standard - 3. ed. CLSI document M27-A3. Wayne, 2008.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

6. Cortez, L. E. R.; Yamaguchi, M. U. Cortez, D. A. G.; Pesco, D. C. S. Mundo Saúde. 2015, 39, 433.

7. Fortún, J.; Meije, Y.; Fresco, G.; Moreno, S. Enferm. Infecc. Microbiol. Clín, 2012, 30, 201.

8. Fuentefria, A. M.; Andrade, S. F.; Silveira, G. P.; Kulkamp, I.; Pippi, B.; Machado, M. M.; Oliveira, L. F. S.; Cruz, L.; Frizzo, C.; Martins, A. F. J. Infect. Control, 2016, 5.

9. Garmendia, L.; Vero, S. Int. J. Food Microbiol, 2016, 216, 31.

10. Gibbons, J. G.; Rokas, A. Trends Microbiol, 2013, 21, 14.

11. Gomes, D.; Pereira, M.; Bettencourt, A. F. Braz. J. Pharm. Sci, 2013, 49.

12. Kano, R.; Sobukawa, H.; Murayama, S. Y.; Hirose, D.; Tanaka, Y.; Kosuge, Y.; Hasegawa, A.; Kamata, H. J. Infect. Chemother, 2012, 22, 133.

13. Pekmezovic, M.; Rajkovic, K.; Barac, A.; Senerovíc, L.; Arsenijevic, V. A. Biochem. Eng. J, 2015, 99, 131.

14. Sahu, J. K.; Ganguly, S.; Kaushik, A. Chin. J. Nat. Med, 2013, 11, 456.

15. Srinivasan, A.; Opez-ribot, J. L.; Ramasubramanian, A. K. Drug Discov. Today Technol, 2014, 11, 65.

16. Steinbach, W. J.; Marr, K. A.; Anaissie E. J.; Azie, N.; Quan, S. P.; Meier-kriesche, H. U.; *et al*. J. Infect, 2012, 65, 453.

17. Vermeulen, E.; Maertens, J.; Meersseman, P.; Saegeman, V.; Dupont, L.; Lagrou, K. Clin. Microbiol. Infect, 2014, 20, 333.

18. Hemaiswarya, S.; Kruthiventi, A. K.; Doble, M. Phytomedicine, 2008, 15, 639.

19. Silva, F.; Ferreira, S.; Duarte, A.; Mendonça, D. I.; Domingues, F. C. Phytomedicine, 2011, 19, 42.

20. Numpaque, M. A.; Oviedo, L. A.; Gil, J. H.; García, C. M.; Durango, D. L. Trop. Plant Pathol, 2011, 36.

21. Simović, M.; Delas, F.; Gradvol, V.; Kocevski, D.; Pavlović, H. J. Intercult. Ethnopharmacol, 2014, 3, 91.

22. Campitelli, M.; Zeineddine, N.; Samaha, G.; Maslak, S. J. Clin. Med. Res**,** 2017, 9, 451.

23. Martín-peña, A.; Aguilar-guisado, M.; Espigado, I.; Cisneros, J. M. Clin. Infect. Dis, 2014, 59, 1437.

24. El-ahmady, S.; El-shazly, M.; Milad, R. J. Appl. Pharm. Sci, 2013, 3, 26.

25. Mahboubi, M.; Bidgoli, F. G. Phytomedicine, 2010,17, 771.

26. Abbaszadeh, S.; Sharifzadeh, A.; Shokri, H.; Khosravi, A. R.; Abbaszadeh, A. J. Mycol. Med, 2014, 24, 51.

27. Freitas, M. A.; Andrade, J. C.; Guedes, G. M. M.; Tintino, S. R.; Souza, C. E. S.; Leite, N. F.; Gondim, C. N. F. L.; Morais-braga, M. F. B.; Matias, E. F. F.; Coutinho, H. D. M. Biosci. J, 2013, 29, 781.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

***Tabela 1**. CIM do carvacrol, da anfotericina B e do cetoconazol contra Aspergillus.*

CEPA	CIM carvacrol	CIM anfotericina	CIM cetoconazol
A. flavus LM-26	64 µg/mL	16 µg/mL	16 µg/mL
A. flavus LM-3	32 µg/mL	2 µg/mL	16 µg/mL
A. flavus LM-247	32 µg/mL	2 µg/mL	16 µg/mL
A. flavus LM-210	256 µg/mL	2 µg/mL	32 µg/mL
A. flavus LM-2	32 µg/mL	2 µg/mL	32 µg/mL
A. flavus ATCC-13013	64 µg/mL	2 µg/mL	16 µg/mL
A. fumigatus ATCC-46913	32 µg/mL	2 µg/mL	32 µg/mL
A. fumigatus ATCC-16913	32 µg/mL	2 µg/mL	128 µg/mL
A fumigatus IPP-210	16 µg/mL	2 µg/mL	1024 µg/mL

Fonte: Dados da pesquisa.

***Tabela 2.** Associação do carvacrol com a anfotericina B.*

Cepa	CIF carvacrol	CIF anfotericina	ICIF	Interação
A. flavus ATCC-13013	0, 125	0, 125	0, 25	Sinergismo
A. fumigatus ATCC-16913	0, 125	1, 0	1, 125	Indiferença

Fonte: Dados da pesquisa.

***Tabela 3**. Associação do carvacrol com o cetoconazol.*

Cepa	CIF carvacrol	CIF cetoconazol	ICIF	Interação
A. flavus ATCC-13013	1, 0	0, 125	1, 125	Indiferença
A. fumigatus ATCC-16913	8,0	0, 25	8, 25	Antagonismo

Fonte: Dados da pesquisa.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ATIVIDADE LARVICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DO *CINNAMOMUM ZEYLANICUM BLUME*

ACTIVITY LARVICIDE OF THE ESSENTIAL OIL OF *CINNAMOMUM ZEYLANICUM BLUME*

GOMES, Paulo Roberto Barros[1*]; SANTOS, Dayara Pereira[2]; FILHO, Victor Elias Mouchrek[3]; MENDES, Leandra Sofia dos Santos[4]; FONTENELE, Maria Alves[5]

[1,2] Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará, Campus Abaetetuba, Abaetetuba – PA, Brasil.

[3,4] Universidade Federal do Maranhão, Laboratório de Pesquisa em Óleos Essenciais, Departamento de Tecnologia Química, Av. dos Portugueses, 1966, Bacanga, cep 65080-805, São Luís – MA, Brasil.

[5] Universidade Federal do Maranhão, Coordenação de Engenharia de Alimentos, Imperatriz – MA, Brasil.

** Autor correspondente*
e-mail: prbgomes@yahoo.com.br

Received 20 April 2018; received in revised form 21 April 2018; accepted 23 April 2018

RESUMO

O gênero *Cinnamomum* (Lauraceae) é constituído por aproximadamente 350 espécies, muitas das quais são produtoras de óleo essencial, sendo as partes das plantas mais utilizadas a casca desidratada. Logo, devido a essas características, a espécie *Cinnamomum zeylanicum Blume*, conhecida popularmente como canela, apresenta as seguintes propriedades biológicas: analgésico, antisséptico, antiespasmódico, adstringente, inseticida, antifúngico e antimicrobiano. Assim este trabalho avalia as propriedades físico-químicas e a atividade larvicida frente ao *Aedes aegypti* do óleo essencial das folhas do *Cinnamomum zeylanicum Blume* que são encontradas no Munícipio de São Luís, Maranhão. Extraiu-se quantitativamente o óleo essencial por hidrodestilação. Determinaram-se as propriedades físico-químicas do óleo essencial (densidade, índice de refração, solubilidade, cor e aparência). Caracterizou-se analiticamente o óleo por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG-EM) e calculou-se a CL_{50} do óleo, a partir dos métodos de Reed-Muench & Pizzi, respectivamente. O rendimento do óleo foi de 4,33 % de massa por volume, o que permitiu a identificação de 4 componentes, sendo a presença majoritária do eugenol que logo foi confirmada pelas técnicas espectroscópica. O óleo essencial obteve CL_{50} de 56,49 $mg \cdot L^{-1}$. Na identificação do componente majoritário e dos demais componentes, bem como suas quantificações, as técnicas foram precisas e os métodos eficientes, proporcionando um bom desempenho analítico nas determinações.

Palavras-chave: *Hidrodestilação, Eugenol, Cinnamomum zeylanicum Blume, Aedes aegypti, Larvas.*

ABSTRACT

The genus *Cinnamomum* (Lauraceae) consists of approximately 350 species, many of which are essential oil producers, with the most frequently used parts of the plants being dehydrated bark. Therefore, *Cinnamomum zeylanicum Blume*, known popularly as cinnamon, has the following biological properties: analgesic, antiseptic, antispasmodic, astringent, insecticidal, antifungal and antimicrobial. Thus, this work evaluates the physicochemical properties and larvicidal activity against Aedes aegypti of the essential oil of Cinnamomum zeylanicum Blume leaves that are found in the Municipality of São Luís, Maranhão. The essential oil was quantitatively extracted by hydrodistillation. The physicochemical properties of the essential oil (density, refractive index, solubility, color, and appearance) were determined. The oil was characterized analytically by gas chromatography coupled to mass spectrometer (GC-MS) and the CL_{50} of the oil was calculated from the Reed-Muench & Pizzi methods, respectively. The yield of the oil was 4.33% of mass per volume, which allowed the identification of 4 components, being the major presence of eugenol that soon was confirmed by the spectroscopic techniques. The essential oil obtained CL_{50} of 56.49 $mg \cdot L^{-1}$. In the identification of the major component and the other components, as well as their quantifications, the techniques were precise and the

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

methods efficient, providing a good analytical performance in the determinations.

Keywords: *Hydrodistillation, Eugenol, Cinnamomum zeylanicum Blume, Aedes aegypti, Larvae.*

INTRODUÇÃO

A caneleira é uma árvore originária do Ceilão, da Birmânia e da Índia e conhecida há mais de 2500 anos a.C. (antes de Cristo) pelos chineses. Seu gênero, "*cinnamomum*", segundo referências, é derivado da palavra indonésia "kayu manis", que significa "madeira doce". Mais tarde, recebeu o nome hebreu "quinnamon", que evoluiu para o grego "kinnamon".

A canela é uma árvore de ciclo perene que atinge até 8 a 9 metros de altura. O tronco alcança cerca de 35 cm de diâmetro. As folhas são coriáceas, lanceoladas, com nervuras na base, brilhantes e lisas na parte superior e verde-clara, e finamente reticulada na parte inferior. As flores são de coloração amarela ou esverdeada, numerosas e bem pequenas, agrupadas em cachos ramificados (Balmé, 1978; Schiper,1999). Essa árvore requer cerca de 1.300 mm (milímetro) de chuva por ano e temperatura média anual superior a 21°C.

O gênero *Cinnamomum* (Lauraceae) é constituído por aproximadamente 350 espécies, muitas das quais são produtoras de óleo essencial. O valor comercial dos óleos de Cinnamomum depende da espécie e da parte da planta utilizada (Fao, 1995). Os óleos essenciais mais importantes no mercado mundial são os obtidos de *C. verum* ("Cinnamomum bark oil" e "Cinnamomum leaf oil"), *C. cassia* ("cassia oil") e *C. camphora* ("sassafras oil" e "ho leaf oil"). *Cinnamomum zeylanicum Blume* (*Cinnamomum verum)*, conhecida como "canela-da-índia" e "canela-do-ceilão", sendo estas originária de algumas regiões da Índia e do Ceilão. A parte interna da casca do tronco e dos ramos constitui a canela do comércio, com vasto uso mundial na perfumaria e na culinária, devido suas propriedades aromáticas e condimentares além de ser, popularmente, utilizada como estimulante, tônica, carminativa e antiespasmódica. A canela e o seu óleo essencial são empregados como corretivos do odor e do sabor na preparação de alguns medicamentos (Lima et al., 2005).

De acordo com a literatura, *Cinnamomum zeylanicum blume* apresenta como composição química as seguintes substâncias: ácido cinâmico, açúcares, aldeído benzênico, aldeído cinâmico, aldeído cumínico, benzoato de benzila, cimeno, cineol, eugenol, felandreno, linalol, metilacetona, mucilagem, oxalato de cálcio, pineno, resina, tanino e vanilina. As partes das plantas mais utilizadas são: óleo essencial e casca desidratada. O *Cinnamomum zeylanicum* apresenta como propriedades medicinais: adstringente, afrodisíaca, anti-séptica, carminativa, digestiva, estimulante, sedativa, tônica e vasodilatadora (Balmé, 1978; Schiper,1999).

Além das propriedades medicinais, a espécie *Cinnamomum zeylanicum Blume*, conhecida popularmente como canela, apresenta as seguintes propriedades biológicas: analgésico, antisséptico, antiespasmódico, adstringente, inseticida, antifúngico e antimicrobiano (Gayoso et al*.,* 2005).

Assim, utiliza-se, praticamente, a parte aérea do vegetal como um todo. As folhas são utilizadas para a extração de óleos essenciais, mas a parte mais valorizada é a casca dos ramos. No comércio, encontra-se a canela em pó, rasurada e em cascas enroladas em si mesmas e medindo cerca de 20 a 25 cm de comprimento (Koketsu et al., 1997).

Nesse contexto, este trabalho avalia as características físico-químicas e atividade larvicida do óleo essencial das folhas do *Cinnamomum zeylanicum Blume* (canela) que são comercializadas em supermercados da rede varejista do Munícipio de São Luís.

PARTE EXPERIMENTAL

As folhas da canela foram obtidos em supermercado da rede varejista de São Luís, identificados como *Cinnamomum zeylanicum Blume*, registrado no Herbário Ático Seabra (SLS) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) sob o número de registro 1153 e levados ao laboratório de Físico-Química de Alimentos do Pavilhão Tecnológico da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) para extração do óleo essencial.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Obtenção do óleo essencial

Para a extração do óleo essencial do *Cinnamomum zeylanicum Blume*, 30 g dessas folhas foram secas a 38ºC por 48 horas, prensadas e acondicionadas em folhas de jornal, para em seguida ser pesado e triturado. Após esse procedimento, o material foi transferido para um balão de fundo redondo com capacidade de 1000 mL, onde se efetuou a adição de água destilada (proporção de 1:10) e o acoplamento ao extrator de Clevenger.

Em seguida ligava-se a manta elétrica e mantinha-se a temperatura em 100ºC. Após 5 horas encerrava-se a destilação, recolhendo-se assim o óleo essencial. Em seguida, este foi seco por meio de percolação em sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4). Essas operações foram realizadas em triplicatas e as amostras armazenadas em ampolas de vidro âmbar sob refrigeração para evitar possíveis perdas de constituintes voláteis. Posteriormente, esses óleos foram submetidos às análises.

O rendimento do óleo essencial foi expresso em porcentagem na relação massa/volume pela medida da densidade, observando o volume (mL) de óleo essencial obtido após a extração do óleo por massa (g) de material vegetal, conforme descrito pela Farmacopeia Brasileira (1996) e Fabrowski (2002).

Propriedades físico-químicas do óleo essencial

As propriedades físico-químicas do óleo essencial determinadas foram: densidade, solubilidade em etanol a 70% v/v, índice de refração, cor e aparência; as análises químicas foram realizadas, empregando-se a técnica cromatografia em fase gasosa acoplada ao espectrômetro de massas por impacto de elétrons e analisador íon trap (CG-EM-IE-Ion trap). O equipamento utilizado foi da marca Varian 2100, utilizando hélio como gás de arraste com fluxo na coluna de 1 $mL.min^{-1}$; temperatura do injetor de 280ºC, split 1:10; coluna capilar (15mx0,25mm) com fase estacionária VF-1ms (100% metilsiloxano 0,25µm) e programação de temperatura do forno de 40 a 300ºC com taxa de aquecimento de $8ºC \cdot min^{-1}$. No Espectrômetro de Massas, as temperaturas do mainfold, íon trap e da linha de transferência foi de 280ºC. Foram injetadas alíquotas de 0,3 µL (injetor automático CP-8410) das amostras diluídas na proporção de 1mg da amostra em 1000 µL de diclorometano.

Obtenção e cultivo das larvas

Como os ovos do *Aedes aegypti* não são postos diretamente na água, mas sim milímetros acima de sua superfície, principalmente em recipientes artificiais, foi preparada uma armadilha simples para coleta desses ovos. Para tanto, foram utilizados jarros de plástico para planta, de aproximadamente 500 mL, semipreenchidos com água e um pedaço de madeira de dimensões de aproximadamente 20cmx5cm com uma parte imersa e outra não. A fêmea do *Aedes aegypti* deposita seus ovos na parte imediatamente superior à lâmina d'água, na parte da madeira ainda úmida, mas fora da água do jarro.

Os ovos do *Aedes aegypti* foram imersos numa bacia plástica, de formato retangular, com cerca de 3 litros de água mineral para a eclosão. Após a imersão dos ovos, 0,5g de ração de rato foi adicionado à água para auxiliar no crescimento das larvas. Todo o material foi mantido no interior de uma gaiola de madeira e coberta com uma tela de tecido, apropriada para insetos, a fim de evitar a contaminação por ovos de outras espécies de mosquito. Após a eclosão, as larvas foram acompanhadas até que atingissem o terceiro estágio do desenvolvimento, quando então foram utilizadas nos ensaios de atividade larvicida. Foram necessários de quatro a cinco dias para que as larvas atingissem o tamanho ideal para os ensaios. As larvas foram identificadas como *Aedes aegypti* por técnicos do Laboratório do Núcleo de Patologia Tropical e Medicina Social do Departamento de Patologia da Universidade Federal do Maranhão.

Teste de Toxicidade

Para realização do teste de toxicidade, as larvas selecionadas no terceiro estágio foram transferidas para um béquer contendo 20 mL de água mineral com temperatura de 26 a 28ºC. Dez larvas foram capturadas utilizando-se uma pipeta de Pasteur. Cada teste foi feito em quintuplicata para cada concentração testada. Os controles positivos foram realizados com o organofosforado temephos em larvas do *Aedes aegypti*, na concentração utilizada pela Vigilância Sanitária que é de 100 $mg \cdot L^{-1}$. Os controles

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

negativos foram realizados com 20 mL de água mineral (26-28ºC) contendo 0,04% de Tween 80 (tensoativo hidrofólico que facilita a aplicação em emulsões do tipo óleo em água). As larvas foram expostas às soluções por 24 horas, sendo monitoradas de hora em hora. Ao fim dos períodos registrou-se a mortalidade.

Para o preparo da solução teste, pesou-se 20 mg do óleo essencial em um recipiente (do tipo eppendorf), para cada mililitro da solução teste e, em seguida, foi adicionada uma gota de solvente do tipo Tween 80 sobre o óleo, fazendo-se então a homogeneização. A seguir, utilizando-se uma pipeta automática, foi adicionado um mililitro de reagente água tipo IV (ASTM D 1193, 1999), fazendo-se nova homogeneização. Esta solução foi então transferida para o béquer contendo as larvas separadas para o teste, de acordo com as concentrações pré-estabelecidas.

Análises estatísticas

Após os testes, montou-se uma tabela com os valores das quatro concentrações, logaritmo das mesmas, o número de larvas mortas após 24 horas (média dos cinco pontos), número de larvas vivas após 24 horas (média dos cinco pontos), o acumulado de mortos (soma das células de mortos abaixo) e o acumulado de vivos (soma das células de vivos acima).

A análise estatística dos dados foi realizada de acordo com o método de Reed & Muench (1938), o qual parte do princípio de que um animal que sobreviva a certa dose, também irá sobreviver em qualquer outra dose menor que aquela, consequentemente, o animal que morrer com certa dose, também irá morrer em doses maiores que aquela. A partir de uma tabela contendo os dados de mortalidade para cada concentração testada, é construído o gráfico onde se observa uma curva para o acúmulo de animais mortos em cada concentração e outra curva para o acúmulo de sobreviventes. O ponto de intercessão entre as curvas é a Concentração Letal 50% (CL_{50}), pois nesse ponto o número de animais sobreviventes é igual ao número de animais mortos (Colegate e Molyneux, 1993). O intervalo de confiança foi calculado segundo o método de Pizzi (1950), no qual se constrói um gráfico do percentual de mortos *versus* logaritmo (log) da dose. A seguir determina-se o valor de "R", que é a diferença entre o log da dose que mata 75% das larvas e o log da dose que mata 25% das larvas. Calcula-se também a variável "h" que consiste na média das diferenças dos valores de log das doses. Com esses dados, determina-se o log do erro padrão (SE), através da seguinte fórmula: $(SE)^2 = 0,79 \times h \times R/20$. Finalmente, o valor do intervalo de confiança é igual $2x10^{SE}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação do rendimento dos óleos essências

Segundo Mouchrek Filho (2000), citado conforme Gomes e colaboradores (2016), o tempo de extração do óleo essencial é um dos principais parâmetros físico-químicos da indústria de essências, no que se refere à qualidade e à natureza econômica. Por isso, uma destilação rápida pode conduzir a um produto contendo predominantemente constituintes mais voláteis, porém destituído das melhores características; ao contrário, uma extração prolongada encarece o produto e também pode sobrecarregá-lo de compostos de aromas indesejáveis (Chaar, 2000, *apud* Gomes et al., 2016).

A Tabela 1 mostra o tempo máximo de extração do óleo estudado. Já os parâmetros físico-químicos do óleo essencial são importantes na determinação e controle da qualidade e estes são apresentados na Tabela 2.

Tabela 1. Tempo de extração dos óleos essenciais das folhas do *Cinnamomum zeylanicum Blume*

Tempo de extração (Horas)	Quantidade de óleo essencial obtido (mL)
0	0
1	0,3
2	0,6
3	0,8
4	1,3

O rendimento da extração foi calculado diante da quantidade de óleo que se obteve a partir de uma determinada massa do vegetal. Neste experimento, partiu-se de uma massa de 30 g das folhas do *Cinnamomum zeylanicum Blume* sendo obtido em média 1,3 mL de óleo num tempo de 4 horas.

O rendimento massa por volume (m/v) foi de 4,33 % e a densidade encontrada de 1,023 $g \cdot mL^{-1}$. Observa-se a proximidade da densidade do óleo com a densidade da água, no qual

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

sustenta a dificuldade encontrada durante o processo de extração pelo sistema Clevenger (Simões, 2004). Portanto, esses valores podem sofrer variações atribuídas à diferença de época de colheita, tipo de solo, clima da região, tempo de secagem e umidade relativa do ar, no dia da colheita (Marini et al., 2005). Além disso, o rendimento determinado nesse trabalho está acima da faixa de valores encontrados na literatura, que foi de 0,2 a 2,0 mL nas cascas e 0,7 a 1,2 mL nas folhas (Guenther, 1950; Purseglove, 1981; Koketsu, 1997). Investigando-se os componentes do óleo extraído das folhas da canela, Miyazawa e Kameoka, (2008), obtiveram um valor da densidade de 1,15 g·mL e Jirovetz, (2001) de 0,993 g·mL^{-1}. Para o índice de refração, Tripathi e colaboradores, (2008), obtiveram um valor de 1,4842 e Jirovetz (2001), de 1,4826. No que diz respeito à solubilidade, o valor obtido por Jirovetz, (2001) foi de 1:2(álcool 90%).

Comparando os valores para o óleo essencial estudado com os da literatura, pode-se observar que há uma similaridade entre eles, no que diz respeito aos parâmetros analisados. As pequenas diferenças nos valores encontrados podem ser atribuídas a fatores como época de coleta e diferentes tipos de solo e sazonalidade (Özcan e Chalchat, 2002).

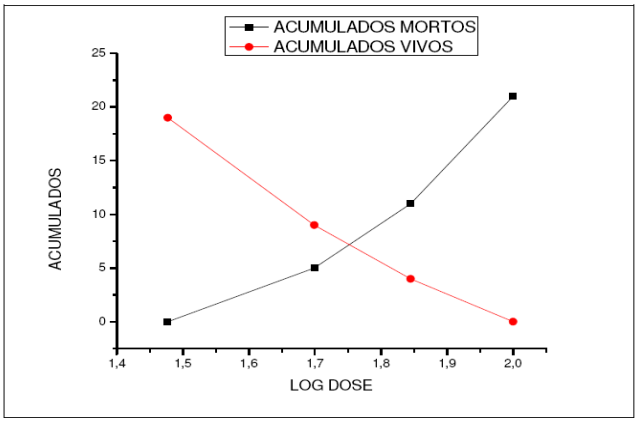
O cromatograma do óleo essencial extraído das folhas da *Cinnamomum zeylanicum Blume* (canela) obtido na análise de Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massa que pode ser observado na Figura 1. Os picos cromatográficos foram identificados através da comparação dos respectivos espectros de massa com os dados das espectrotecas (1) WILEY 139; (2) NIST107 e (3) NIST21.

O cromatograma do óleo essencial das folhas do *Cinnamomum zeylanicum Blume* obtidos mostram os componentes majoritários e alguns minoritários. Na Figura 1, observa-se quatro picos cromatográficos, sendo que o pico cromatográfico 1 é o Linalol, cujo tempo de retenção foi 13,20 min; o pico cromatográfico 2 é o Eugenol, com tempo de retenção 22,63 min; o pico cromatográfico 3 é o Cariofileno, o qual apresentou o tempo de retenção 24,63 min; o pico cromatográfico 4 é o Humuleno, cujo tempo de retenção foi 25,74 min; contudo, o que apresentou maior rendimento foi o Eugenol e o menor o Humuleno. Assim, o constituinte majoritário do óleo foi o eugenol com 82,67%, seguido do Cariofileno com 12,18%, do Linalol com 2,68% e por último do Humuleno apresentando 2,47**%.**

A atividade larvicida do óleo essencial extraído das folhas da espécie *Cinnamomum zeylanicum Blume* foi testada em quatro concentrações diferentes: 30,50, 70 e 100 mg·L^{-1}, sendo *n* o número de larvas do mosquito *Aedes aegypti* utilizadas no ensaio larvicida para cada concentração (totalizando 10 larvas por ensaio). Para cada concentração os testes foram realizados em quintuplicata. Os dados sobre o número de larvas vivas e de larvas mortas foram encontrados através de uma média de cinco repetições para cada uma das quatro concentrações testadas. Assim, na concentração de 100 mg·L^{-1}, observou-se a mortalidade total das larvas, conforme mostrado na Tabela 3. Já os controles utilizados não apresentaram resposta positiva ao teste**.**

Na Figura 2, mostra-se que a Concentração Letal 50% (CL_{50}), concentração na qual cinqüenta por cento das larvas testadas morrem, foi encontrada próxima ao Log dose 1,75 (abaixo da concentração de 70 mg·L^{-1}).

Figura 2. Estimativa da CL_{50} do óleo essencial das folhas do *Cinnamomum zeylanicum Blume* pelo método Reed-Muench a partir do acumulado de larvas mortas e vivas em função do logaritmo decimal da dose aplicada. A CL_{50} é o ponto de intersecção das duas curvas.



De acordo com Figura 2, a dose letal 50% para o óleo essencial das folhas do *Cinnamomum zeylanicum Blume* foi calculada através da intersecção das curvas de indivíduos acumulados mortos e indivíduos acumulados

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

vivos, tendo como resultado a concentração de 56,49 $mg \cdot L^{-1}$.

Dessa forma, a Concentração Letal (CL_{50}) obtida para o óleo essencial estudado é considerado um agente larvicida em potencial. Isso é confirmado de acordo com Cheng (2003), que considera bons agentes larvicidas as substâncias com valor de CL_{50} inferior a 100 $\mu g \cdot mL^{-1}$. A respeito disso, Levya e colaboradores afirmam que a potencialidade dos óleos essenciais varia segundo a espécie vegetal, a origem, a composição e os mecanismos de ação contra a praga em questão (Leyva et al., 2009).

Contra o *Aedes aegypti* alguns estudos mostram que os componentes terpênicos, alcoóis e aldeídos dos óleos essenciais são os principais responsáveis pela atividade inseticida ou larvicida (Lucia, 2007; Lee,2006; Panella, 2005; Carvalho, 2003; Karr, 1998; Araujo, 2003; Gomes *et al*, 2018).

Nesse contexto, é importante ressaltar, que não se pode apenas atribuir a ação larvicida descrita neste estudo ao composto eugenol; apesar deste estar presente em maior quantidade, na ordem de 82,67%, nas folhas da amostra do *Cinnamomum zeylanicum Blume**.***

CONCLUSÕES:

Portanto, os resultados analíticos mostraram a eficiência do óleo extraído das folhas de *Cinnamomum zeylanicum Blume* juntamente com a metodologia adotada tanto na extração do óleo essencial, quanto à identificação e quantificação do composto majoritário. As folhas da *Cinnamomum zeylanicum Blume* forneceram um óleo essencial cujo rendimento foi de 4,33%, para extração por hidrodestilação. A caracterização por CG-EM permitiu identificar quatro componentes presentes no óleo essencial: linalol, eugenol, cariofileno e humuleno, sendo o eugenol o componente majoritário na amostra (82,67%). A atividade larvicida do óleo essencial das folhas da *Cinnamomum zeylanicum Blume* frente às larvas do *Aedes aegypti* apresentou uma CL_{50} de 56,49 $mg \cdot L^{-1}$. Nesse contexto o óleo das folhas da *Cinnamomum zeylanicum Blume* pode oferecer uma alternativa larvicida natural no combate à dengue**.**

AGRADECIMENTOS:

Os autores declaram que não há conflito de interesses. Este trabalho foi financiado pelo CNPQ.

REFERÊNCIAS

1. Araujo, E. C., Silveira, E. R., Lima, M. A., Andrade, IL, Lima, MA. Insecticidal activity and chemical composition of volatile oils from Hyptis martisii Benth. J Agric Food Chem. **2003**; 51:3260-2.
2. ASTM, ASTM D1193 – 99. Standard Specification for Reagent Water.
3. Balmé, F. Plantas Medicinais. São Paulo: Hemus, **1978**.
4. Carvalho, A. F., Melo, VM, Carveiro, A. A..; Machoo, MI, Beantim, MB, Rabelo, E. F.. Larvicidal activity of the essential oil from *Lippia sidoide* against *Aedes aegypti*. Mem Inst Oswaldo Cruz. **2003**; 98:569-71.
5. Chaar, J. S. Tese de Doutorado em Química, Universidade Federal de São Carlos, Brasil, **2000**.
6. Cheng, S. S., Changa, H. T., Chang, S. T., Tsaib, K. H., Chen, W. J. Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. Bioresource Technology. **2003**; 89:99-102.
7. Colegate, S. M. & Molyneux, R. J. Bioactive Natural Products**:** Detection, Isolation, and Structural Determination. Boca Raton: CRC Press, **1993**.544 p.
8. Fabrowski, F. J. R. T. Tese de Doutorado em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná, Brasil, **2002.**
9. Fao. Flavors and Fragrances of Plant Origin: Non-Wood Forest Products. Chapter 2. Cinnamomum Oils (including Cinnamon and Cassia), **1995**. Acesso: maio/2004.
10. Farmacopeia Brasileira IV. Parte 1. 4. ed. São Paulo: Editora Atheneu. **1996**; 1.320p.
11. Gayoso, C. W., Lima, E. O., Oliveira, V. T., Pereira, F. O., Souza, E. L., Lima, I. O., Navarro, D. F. Sensitivity of fungi isolated from onychomycosis to *Eugenia cariophyllata essential oil* and eugenol. *Fitoterapia*, **2005**; 76(2), 247-249.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

12. Goma L. K. H. Laboratory observations on the oviposition habits of Aedes (stegomyia) aegypti (Linnaeus). Annals of Tropical Medicine & Parasitology. **1964**; 58:347-349.
13. Gomes, P. R. B; Silva, A. L. S; Pinheiro, H.A; Carvalho, L.L; Lima, H. S; Silva, E. F.; Silva, R. P.; Louzeiro, C. H.; Oliveira, M.B; Filho, V.E.M; Rev. Bras. Plantas Med. **2016**, 18(2 supl.1), 597**.**
14. Gomes, P. R. B.; De Oliveira, R. W. S.; Mouchrek Filho, V. E.; Do Nascimento, A. A.; Everton, A. P.; Louzeiro, H.C.; Reis, J. B.; Fontenele, M. A. Periódico. Tche Química. **2018**, 29 (15): 184-195.
15. Guenther E. The Essential Oils. Vol. IV. Individual essential oils of the plant families *Gramineae, Lauraceae, Burseraceae, Myrtaceae, Umbelliferae* and *Geraniaceae***.** Toronto, New York, London: D. Van Nostrand, Inc.**1950**. p. 370-377.
16. Jirovetz L, Buchbauer G, Jager W. Analysis of *Cinnamomum zeylanicum* Blume leaf oil from south India. J. Essential Oil Research.**2001**, 13: 442-3.
17. Karr, L. L.; Cotas, J.R. Insecticidal properties of dlimonelene. J Pest Sci. **1998**; 13:287-90.
18. Koketsu M., Gonçalves S. L., Godoy R. L. O., Lopes D., Morsbach N.. Óleos essenciais de cascas e folhas de canela (*Cinnamomum verum* Presl) cultivada no Paraná. Ciências Tecnologia de Alimentos.**1997**, 17(3):281-5.
19. Lee, H. S. Mosquito larvicidal activity of aromatic medicinal planta oils against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens pallens.* J Am Mosq Control Assoc. **2006**; 22:292-295.
20. Leyva, M., Marquetti, M. C., Tacoronte, J. E., Scull, R., Tiomno, O., Mesa, A., Montada, D. Actividad larvicida de aceites esenciales de plantas contra *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). Rev Biomed. **2009**; 20:5-13.
21. Lima M. P., Zoghbi M. G. B., Andrade E. H. A., Silva T. M. D., Fernandes T. S. Volatile constituents from leaves and branches of *Cinnamomum zeylanicum* Blume (*Lauraceae*). Acta Amazônica. **2005**, 35(3):363-6.
22. Lucia, A., Gonzále Z., A. P., Saccacini, E., Licastro, S., Zerba, E., Masuh,H. Larvicidal effect of Eucalyptus grandis essential oil and turpentine and their major components on *Ae. aegypti* larvae. J Am Mosq Control Assoc. **2007**; 23: 293-303.
23. Marini L. J, Gutkoski L. C, Elias M. C, Mezzomo N. Efeito da secagem intermitente na estabilidade de grãos de aveia branca. Brazilian Journal of Food Technology.**2005**, 8(3): 260-7.
24. Miyazawa, M., Kameoka, H. Volatile flvor components of *Canela* (*Cinnamomum zeylanicum* Breyn). Agriculture and Biological Chemistry.**2008**, 52(11): 2961-3.
25. Mouchrek Filho, V. E. Tese de Doutorado em Química, Universidade Federal de São Carlos, Brasil, **2000**.
26. Özcan, M, Chalchat, J. C. Essential oil composition of *Ocimum basilicum L.* and Ocimum minimum L. in Turkey. Czech Journal of Food Sciences. **2002**; 20(6): 223-228.
27. Panella, N.A, Dolan, MC, Karchesy, J.J, Xiong, Y, Peralta-Cruz, J, Khasawneh, M. Use of novel compounds for pest control: insecticidal and acaricidal activity of essential oils components from heartwood of Alaska yellow cedar. J Med Entomol. **2005**; 42:352-8.
28. Pizzi, M. Sampling variation of the fifty percent end-point, determined by the Reed-Muench (Behrens) Method. Human Biology**. 1950**; 22: 151-190.
29. Purseglove JW et al. Cinnamon and cassia. In: Spices. London: Longman, **1981.** 2v. (Tropical Agriculture Series). v.l, p. 100-173.
30. Reed, LJ. & Muench, H. 1938. A simple method of estimating fifty percent endpoints. American Journal of Hygiene. **1938**; 27(3) 493-497.
31. Schiper, L. P. Segredos e virtudes das plantas medicinais. Rio de Janeiro: Reader's Digest Brasil, **1999**.
32. Simões C. M. O., Spitzer V. S. Óleos Voláteis. In: Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre: UFSC, **2004** :467-495.
33. Tripathi, P., Dubey, N. K., Shukla, A. K. Use of the essential oils as post-harvest botanical fungicides in the management of grey mold of grapes caused by Botrytis cinerea. World Journal of Microbiology and Biotechnology. **2008**; 24(1): 39-46.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

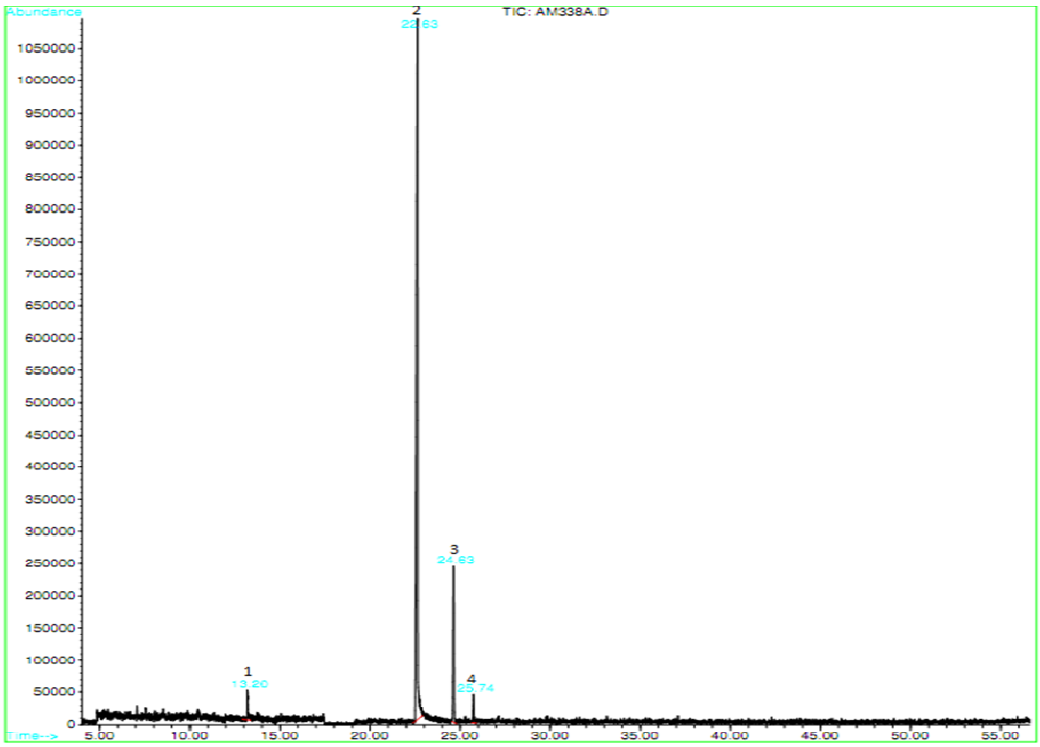


Figura 1. Cromatograma da amostra do óleo das folhas do *Cinnamomum zeylanicum Blume* apresentando os picos selecionados e identificados através da comparação dos respectivos espectros de massas com a espectroteca. (1) Linalol, (2) Eugenol, (3) Criofileno e (4) Humuleno.

Tabela 2. Parâmetros físico-químicos dos óleos essenciais das folhas do *Cinnamomum zeylanicum Blume*

Propriedades Físico-químicas	**Óleo Essencial Estudado**
Densidade (g mL) (25º C)	1,023
Solubilidade em álcool 70% (v/v)	1:1
Índice de Refração (N^{25}_{D})	1,533
Rendimento (%)	4,43
Cor	Amarelo
Aparência	Límpido

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 3. Mortalidade das larvas do mosquito *Aedes aegypti* após 24 horas de exposição em várias concentrações do óleo essencial extraído das folhas do *Cinnamomum zeylanicum Blume*

Dose mg/L	Log dose	Mortos	Vivos	Acumulados mortos	Acumulados vivos	Mortalidade(%)
100	2,0000	10	0	21	0	100
70	1,8450	6	4	11	4	60
50	1,6989	5	5	5	9	50
30	1,4771	0	10	0	19	0

Número de larvas (n=10)

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

USO DO MANDACARU (*Cereus jamacaru*) COMO COAGULANTE NATURAL PARA O TRATAMENTO DE ÁGUA

USE OF MANDACARU (*Cereus Jamacaru*) AS A NATURAL COAGULANT FOR WATER TREATMENT

SANTOS, Joicy Ribeiro dos[1*]; VIEIRA, Maslândia Nogueira[2]

[1,2] Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte, campus Currais Novos, Licenciatura em Química, R Manoel Lopes Filho, n° 773, Valfredo Galvão, CEP 59380-000, Currais Novos – RN, Brasil
(fone: +55 84 3412 2018)

** Autor correspondente*
e-mail: joicylp@gmail.com

Received 06 May 2018; received in revised form 09 May 2018; accepted 30 May 2018

RESUMO

A água passa por várias etapas nas Estações de Tratamento de Água, uma delas utilizam-se coagulantes industriais para diminuir a turbidez. Mesmo sendo muito eficiente nesse processo, apresentam muitas desvantagens, como a produção de uma grande quantidade de lodo que é jogado em rios. É crescente o número de pesquisas que visam substituir os coagulantes industriais por coagulantes naturais. Alguns trabalhos publicados utilizam o polímero extraído de diferentes espécies de cactos. Com o objetivo de obter uma metodologia simples para o tratamento de água, utilizando produto natural no processo de coagulação/floculação, esse trabalho faz uso do cacto Mandacaru. A água utilizada foi coletada do açude Dourado, na cidade de Currais Novos – RN. Foram analisados os parâmetros de turbidez e pH em triplicata. Os resultados obtidos mostraram que a parte do Mandacaru entre miolo e casca, nomeada de parte externa, apresentou-se mais eficiente. As análises realizadas no tempo de 240 minutos utilizando 1g do material obtiveram reduções nos valores de turbidez acima de 90%. Mostrando assim sua eficiência no processo, chegando a valores abaixo de 5 UNT, como recomenda a legislação. Não houve alteração significativa nos valores de pH nos sistemas analisados. Comunidades rurais poderão utilizar a metodologia em águas barrentas.

Palavras-chave: Cacto, coagulação, floculação, turbidez, pH.

ABSTRACT

Before arriving at our houses, it passes for many steps on Water Treatment Stations, wherein one of them it is used industrial coagulants, mainly aluminum sulphate, in order to reduce the turbidity. Even being much efficient on that process, this coagulant shows many disadvantages, as the production in a large amount of sludge (which is dumped on rivers). It is growing the number of research which looks for substitute industrial coagulants for natural ones. Some published works use extracted polymer from different types of cactus. In order to obtain one simple methodology for water treatment, using a natural product on coagulation/flocculation process, this work uses cactus Mandacaru. The used water on this research was collected from Dourado River, in Currais Novos-RN. The parameters of turbidity and pH in triplicate were analyzed. The obtained results showed that the part of cactus between the core and the shell, named extern part, it showed more efficient. Analyses done for 240 minutes, using 1g of that material obtained reductions in turbidity value bigger than 90%. arriving to value less than 5 UNT, as recommend by legislation. There was no significant alteration in pH values of studied systems. Rural communities will be able to use this methodology in muddy water.

Keywords: Cacto, coagulation, flocculation, turbidity, pH.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

A água tem importância fundamental no equilíbrio e manutenção de todos os seres vivos e é o constituinte mais abundante na matéria viva (Bruni, 1993). A finalidade de seu uso irá determinar as qualidades necessárias de acordo com os parâmetros de qualidade químicos, físicos e microbiológicos (Richter; Azevedo Netto, 1991). Para atender a esses parâmetros, exigidos pela Portaria n° 2.914/2011, ela passa por uma série de tratamento nas Estações de Tratamento de Água, ETAs.

Uma que se destaca é a coagulação/floculação, processo onde utiliza-se coagulante com o intuito de reduzir ou eliminar compostos presentes na água, que causam modificações na sua cor, e devem ser eliminados na etapa da decantação (Lenz; Zara; Ostrowski, 2012).

A água tratada não é abundante, principalmente em pequenas comunidades localizadas em cidades do interior do Brasil, especificamente as do nordeste, onde a água é ainda mais difícil de ser obtida, visto que a seca é dominante nessa região. Em muitas dessas comunidades, ainda não abastecidas de água tratada por companhia de água, as únicas fontes para obtenção desse recurso são poços, barreiros ou açudes (Silva, 2012).

O coagulante mais utilizado nas ETAs é o sulfato de alumínio. Um problema nesse tipo de tratamento, que causa impacto ambiental, é que são geradas grandes quantidades de lodo, dentre outros resíduos (rejeitos), que ficam nos tanques de decantação e nos filtros, e que são lançados nos rios (Cordeiro, 2001).

Com o propósito de substituir os coagulantes industriais, estudos são realizados para se obter coagulantes de origem natural, uma vez que estes não causam danos ao meio ambiente, pois são biodegradáveis (Martinez, Chávez, Díaz, Chacín, e Fernández 2003). Coagulantes que, além de não prejudicarem o meio ambiente, tenham baixo custo, apresentem alta eficiência e sejam de fácil aplicação, são os mais procurados para serem utilizados.

Alguns trabalhos já publicados fazem uso, no tratamento de água, de polímeros naturais extraídos de vegetais, inclusive de algumas espécies de cactos, a Tabela 1 descreve alguns deles estudados. Dos listados, não foi encontrado nenhum estudo que utilize diretamente o cacto no tratamento de água. O que tem descrito na literatura são aplicações de extratos obtidos de alguns vegetais, dentre eles cactos. A obtenção desses extratos é uma etapa adicional, que demanda reagentes, mais trabalho e tempo.

Tendo em vista todos os problemas relacionados à utilização de coagulantes comerciais, o presente trabalho procurou desenvolver uma metodologia simples, que pudesse ser aplicada em comunidades carentes, utilizando o Mandacaru *in natura* no processo de coagulação/floculação do tratamento da água barrenta. Nesse estudo, utilizou-se água proveniente do açude Dourado, localizado na cidade de Currais Novos - RN.

PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Coleta e preparo do cacto

Para as análises, foram coletados, entre os meses de setembro e dezembro de 2017, diversos pedaços de diferentes ramificações de espécimes do Mandacaru. Logo após a coleta, foi retirada toda a parte com espinhos e lavada sua superfície com água destilada. Foi dividido em três partes diferentes: parte externa com casca, parte externa sem casca e miolo (Figura 1), que para simplificar foram chamadas de casca, externa e miolo, respectivamente.



Figura 1. *Diferentes partes do cacto: casca, miolo, externa.*

2.2. Coleta da água

As coletas foram realizadas no açude Dourado, no município de Currais Novos/RN, entre os meses de setembro e dezembro de 2017. Para cada semana de estudos foram coletados 4 litros de água e armazenadas em garrafas de polietileno tereftalato (PET), previamente higienizadas.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

2.3. Caracterização da água do açude

O pH foi medido antes e em diferentes tempos após a adição do cacto na água, usando o pH-metro (PH METER MODEL – PHS-3B). A turbidez foi medida da mesma maneira usando o turbidímetro (Modelo DLT-W). Todas esses parâmetros foram medidos utilizando-se sistemas em triplicata e os resultados expressos pela média e desvio padrão dos valores obtidos pelos sistemas.

2.4. Avaliação do cacto Mandacaru como coagulante

Devido as diferenças nas ramificações do cacto recolhido, optou-se por coletar apenas pedaços que estavam mais desenvolvidos. A escolha da parte mais eficiente como coagulante foi feita comparando-se medidas de turbidez da água com as diferentes partes do cacto (casca, miolo e externa), em diferentes tempos.

Foram montados, em béqueres de 150 mL, três sistemas com cada uma das partes, usando-se a proporção de 1g de pedaços de cacto para 100 mL de água do açude. A turbidez e pH iniciais (antes de adicionar o cacto) foram medidos. Após a adição do cacto, todos os sistemas passaram pelo "processo de mistura rápida" (agitação manual com um bastão de vidro, por 1 minuto). Após, deixou-se os sistemas em repouso, para o processo de decantação durante o tempo de 480 minutos. Em determinados tempos (primeiros 240 minutos, a cada 30 minutos e até o fim do tempo, a cada 1 hora) retirava-se de cada sistema uma alíquota de água e media-se a turbidez. As alíquotas foram retiradas com uma pipeta de plástico, com cuidado para não baldear. Após realizar a medida, a alíquota era devolvida ao sistema.

Após a escolha da parte mais eficiente, realizou-se o estudo da variação do mandacaru na água, adicionando-se diferentes quantidades da parte analisada: 0g; 0,5g; 1,0g e 1,5g, utilizando a mesma metodologia descrita anteriormente.

Para efeito da turbidez inicial, os sistemas foram variados entre 220 ± 0,00 e 273,33 ± 1,53 UNT, e o tempo reduzido para 240 minutos. Também foi investigada a possibilidade do cacto estar liberando substâncias na água, afetando assim, de forma negativa a turbidez. Foi realizada utilizando a mesma metodologia do "processo de mistura rápida" com a parte externa e água destilada (em substituição à agua do açude). O sistema foi nomeado de "branco" e a turbidez monitorada por um tempo total de 240 minutos.

Em todos os sistemas descritos, foi feita a avaliação da ação do cacto no pH da água. Utilizou-se a mesma alíquota que era retirada para a turbidez. Por uma questão de simplificação, serão apresentados apenas os resultados obtidos nos sistemas usados para realizar o estudo do efeito da turbidez inicial da água.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

3.1 Análise da estrutura das ramificações do Mandacaru

A estrutura das ramificações do cacto Mandacaru foi avaliada desde o momento da coleta até sua aplicação no laboratório. Algumas ramificações apresentaram-se mais desenvolvidas e outras menos desenvolvidas, de acordo com o tamanho do seu miolo (Figura 2).

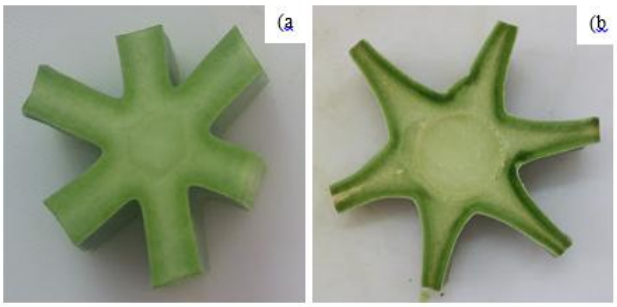


Figura 2. Diferença entre os miolos: a) Miolo não desenvolvido b) Miolo desenvolvido.

Essas diferenças na estrutura interferiram na análise, pois o miolo não desenvolvido apresentou diferença na sua coloração liberando substâncias à água (Figura 3). Já o outro tipo, não aconteceu esse escurecimento, por isso optou-se por escolher apenas pedaços que tivessem desenvolvido seu miolo. Geralmente, é preciso retirar uma grande parte da ramificação, pois o melhor miolo encontra-se na parte inferior, e para não perdê-la Cavalcante (2013) diz que a parte que será descartada (miolo pouco desenvolvido) poderá ser replantada, basta que se espere o tempo de cicatrização que demora cerca de 7 a 10 dias e então poderá ser plantada em solo úmido, onde criará raízes. Outra opção é usar a parte do cacto como forrageiro.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

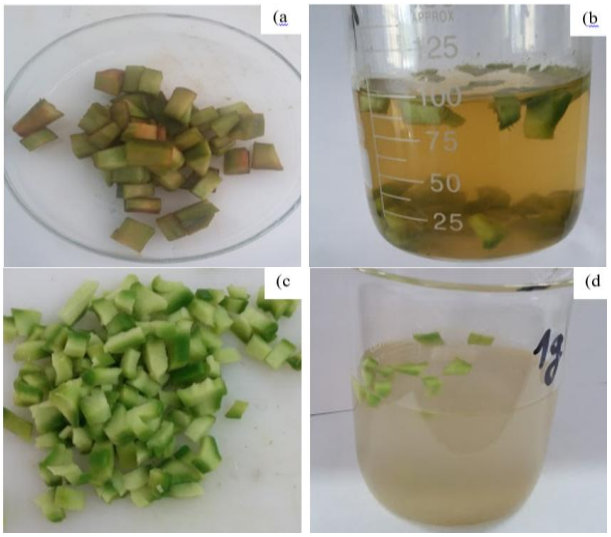


Figura 3. *a) Cacto com miolo pouco desenvolvido. b) Água em contato com o cacto não desenvolvido. c) Cacto com miolo desenvolvido. d) Água em contato com miolo desenvolvido.*

3.2 Análise das diferentes partes do Mandacaru

A Tabela 2 mostra os valores da turbidez em UNT em contato com as diferentes partes do cacto (miolo, casca e externa). A partir desses valores calculou-se a redução ocorrida na turbidez ao decorrer do tempo, em relação ao tempo inicial (0 min).

A escolha da melhor parte como coagulante se deu com a comparação da turbidez dos diferentes sistemas analisados (A, B e C). O sistema A, composto pelo miolo, teve sua redução de 22,08 ± 0,80% nos primeiros 30 minutos. Ao utilizar a parte da casca, sistema B, esse valor foi de 59,15 ± 1,72%, resultado muito superior ao obtido quando se utiliza o miolo do cacto. Entretanto, a parte externa foi a que apresentou o melhor resultado nesse intervalo, com uma redução de 69,83 ± 0,65%. Esse desempenho superior, em relação as duas outras partes estudadas, se manteve ao longo de 8 horas de análise. No final do estudo, no tempo de 24h, o sistema contendo apenas miolo apresentou o melhor resultado, entretanto a escolha da melhor parte, para estudos posteriores, foi a que se mostrasse mais eficiente, proporcionando a maior redução do menor tempo possível, sendo assim desconsideradas as análises para esse tempo.

Todas as partes analisadas eram gelatinosas, com presença de mucilagem que segundo Yin (2010) é rica em carboidratos (dentre eles a pectina), armazenando em almofadas internas e externas grande capacidade de retenção de água. A palma, cacto do gênero Opuntia, apresentou mucilagem rica em polissacarídeos complexos bastante eficiente na absorção de água. Foram encontrados também L-arabinose, D-galactose, L-ramnose, D-xilose e ácido galacturônico (um dos principais constituintes da pectina em plantas) (Sáenz; Sepúlveda; Matsuhiro, 2004). O Coroa de Frade, analisado por Santos Neta (2016), apresentou o extrato rico em pectina. Assim, esse estudo buscou identificar qual das partes avaliadas agia como melhor coagulante natural e aplica-la.

Zara, Thomazini e Lenz (2012) realizaram estudos de remoção da turbidez da água bruta (valor inicial de 20,3 UNT), utilizando extratos do Mandacaru. Concluíram que o polímero extraído quando usado como auxiliar de coagulação/floculação possibilita uma remoção acima da obtida quando usado apenas o coagulante metálico (sem extrato), onde obteve-se redução de cerca de 88% da turbidez inicial.

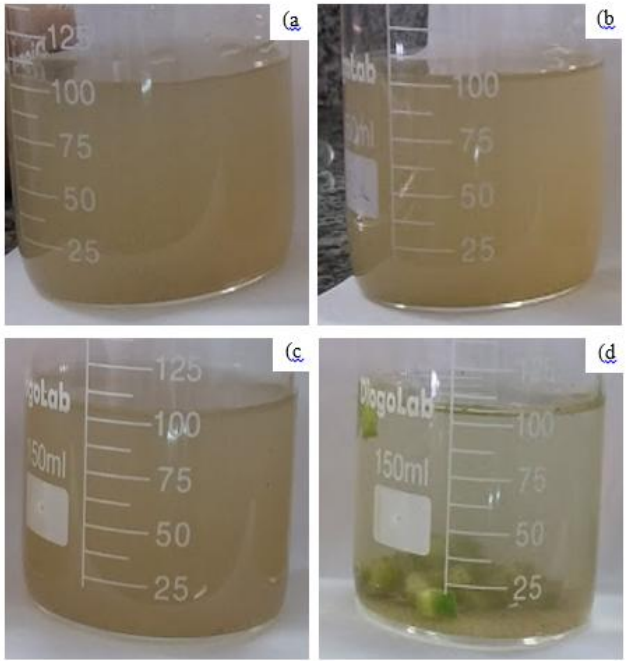
3.3 Variação da concentração do Mandacaru

Depois da escolha da parte mais eficiente, realizou-se estudos variando a sua concentração, adicionando-se quantidades diferentes de cacto em um mesmo volume de água, como mostra a Tabela 3.

O Sistema A não foi adicionado o cacto, a análise chamada de Branco do Método, para se verificar se a mesma metodologia contribui para a redução da turbidez sem a ação do cacto. Neste sistema observa-se uma pequena redução no valor, de apenas 8,93 ± 0,37%, nos primeiros 30 minutos de análise. Apresentando as menores taxas de redução de turbidez, possivelmente por causa do lento processo de decantação, em decorrência dos pequenos sedimentos em suspensão, devido à ausência dos processos de coagulação/floculação. Os demais sistemas, com a presença do coagulante, apresentaram excelentes resultados, alcançando altos valores de redução em poucos minutos. O melhor desempenho foi observado do sistema C, onde utilizou-se 1g de cacto. Comparando-se o sistema contendo apenas água do açude (Sistema A) com os demais onde adicionou-se o Mandacaru (Sistemas B, C e D) fica evidente a importância da aplicação do cacto para acelerar o processo de decantação, permitindo obter uma

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

água livre de sedimentos em um tempo mais curto, pois o cacto libera substâncias para água que agem como coagulante e atuam no processo de coagulação/floculação dos sedimentos em suspensão, produzindo grandes flocos que sedimentam mais rapidamente. A Figura 4 mostra um sistema contendo apenas água do



açude e outro contendo 1g de cacto, no tempo inicial e final da análise após 240 minutos.

Figura 4*: Água do açude Dourado em diferentes tempos de análise. a) Sistema A, no tempo inicial. b) Sistema A, em 240 min de análise. c) Sistema C, no tempo inicial. d) Sistema C, em 240 min de análise.*

Lenz, Zara e Thomazini (2011) discutem em seu trabalho a importância da utilização do extrato do Mandacaru para o processo de formação dos flocos, pois este forma mais rapidamente comparado ao sulfato de alumínio. Zara, Thomazini e Lenz (2012) observaram que os flocos formados, quando usado o extrato do Mandacaru como coagulante auxiliar ao sulfato de alumínio, eram maiores e filamentosos (embora em menor quantidade), o que acelerou o tempo de decantação. Diferente do que foi observado apenas com a aplicação do coagulante metálico, onde os flocos, embora em grande quantidade, eram pequenos.

3.4 Efeito da turbidez inicial

Esse estudo avaliou a eficiência do cacto como coagulante em 4 diferentes amostras de água do açude, variando a turbidez inicial entre 220,00 ± 0,00 e 273,33 ± 1,53 NTU, como mostra a Tabela 4. Nas análises posteriores, pôde-se observar que a partir de 240 minutos não houve redução significativa nos valores de turbidez. Com o intuito de se chegar a uma metodologia mais simples e rápida, o tempo foi reduzido para 240 minutos.

O sistema A, possuindo a água com o menor valor de turbidez, apresentou os melhores resultados, reduzindo de 220,00 ± 0,00 para 18,73 ± 0,83 UNT logo nos primeiros 30 minutos (91,48 ± 0,38%). Em todos os sistemas, a redução foi significativa. Os resultados obtidos ratificam que o Mandacaru atua de forma eficiente na coagulação, indicando que quanto menor o valor inicial da turbidez da água a ser tratada, mais eficiente será o tratamento e menor será seu valor final.

3.5 Análise do cacto em água destilada

Analisou-se a ação do cacto Mandacaru em água destilada (sistema chamado de Branco), averiguando se o cacto libera substâncias na água que afetam a sua turbidez de forma negativa, ou seja, aumentando a turbidez da água. Os resultados obtidos nesse estudo estão na Tabela 5.

Observando os valores presentes na segunda coluna da tabela, referente ao sistema Branco, nota-se que ao longo das 4h o cacto liberou substâncias que aumentaram a turbidez da água destilada, como mostra a Figura 5. A terceira coluna mostra um dos estudos de tratamento de turbidez realizados com o cacto na água do açude, já mostrado e discutido no tópico anterior. A última coluna da tabela (Sistema A – Branco) quantifica a diferença do quanto o cacto "sujou" a água (aumentando a sua turbidez) e o quanto ele limpou, retirando os sólidos suspensos e reduzindo assim, a turbidez. Dessa forma, a partir de 3h de tratamento de turbidez usando o cacto obtém-se valores dentro do limite recomendado pela Portaria n° 2.914/2011, que estabelece que a água deve ter turbidez menor que 5 UNT para se enquadrar na qualidade de água tratada.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

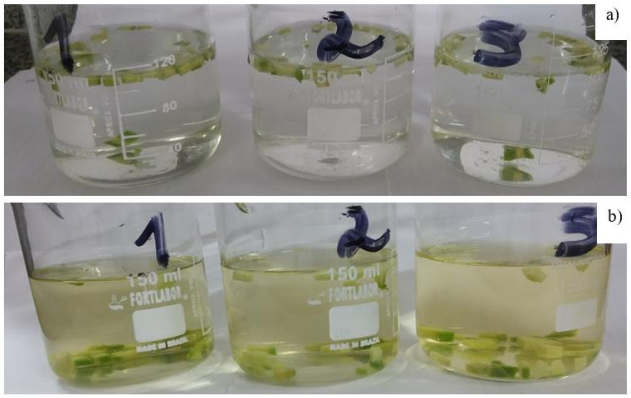


Figura 5: *Cacto em água destilada (sistema Branco): a) Início da análise. b) Final da análise.*

3.5 Ação do Mandacaru no pH da água

Todas as análises discutidas aqui, não mostraram uma alteração significativa no valor de pH, na Tabela 6 mostra os valores referente ao estudo descrito na Tabela 3. Estando todos dentro do limite recomendado pela Portaria n° 2.914/2011, que estabelece os valores entre 6,0 e 9,5.

CONCLUSÕES:

Esse trabalho propõe uma nova metodologia utilizando o Mandacaru para o tratamento de águas brutas apresentando alta turbidez. O uso do cacto *in natura* é uma opção mais acessível, que poderá ser empregado em comunidades carentes de água tratada, em substituição aos coagulantes industriais, visto que, o Mandacaru é bastante abundante pelo sertão.

Durante as análises, o *Cereus jamacaru* apresentou bons resultados como coagulante. O melhor desempenho foi alcançado quando aplicou-se 1g da parte externa do cacto na água com turbidez mais baixa, obtendo-se redução de 220 ± 0,00 para 2,23 ± 0,85 UNT. Em todas as análises realizadas, não observou-se alterações significativas nos valores de pH da água. Dessa forma, após o tratamento da água com o Mandacaru, os valores dos dois parâmetros estudados ficaram dentro do exigido pela Legislação nº 2.914/2011, confirmando assim, a viabilidade do uso do Mandacaru no tratamento da turbidez da água.

O cacto é biodegradável, é uma alternativa sustentável e não prejudica o meio ambiente, diferente do sulfato de alumínio, utilizado nas ETAs, que gera lodo rico em alumínio, um metal persistente que pode prejudicar o meio ambiente e a saúde humana. O lodo produzido após o tratamento da água barrenta usando o cacto *in natura* pode ser jogado no ambiente ou até ser utilizado como adubo, visto que, têm alta concentração de material orgânico. A composição química e estrutural das cactáceas é bastante diversificada, com proteínas, amilase, ácido málico, vitaminas e celulose (Zhang; Zhang; Luo; Yang, 2005). Com toda essa riqueza, o Mandacaru não apresenta toxicidade pois é bastante utilizado como alimento para o gado e com seu caule produz-se medicamentos populares para curar males dos rins.

REFERÊNCIAS:

1. BRASIL. Ministério da saúde. **Portaria n° 2.914/2011.** Controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília, 2011. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html>. Acesso em: 08 fev 2018.

2. BRUNI, J. C. A água e a vida. Tempo Social. **Revista de Sociologia da USP.** S. Paulo, 5(1-2): 53-65, 1994. Disponível em: < http://www.scielo.br/pdf/ts/v5n1-2/0103-2070-ts-05-02-0053.pdf> Acesso em: 26 maio 2017.

3. CARDOSO, K. C.; BERGAMASCO, R.; COSSICH, E. S.; MORAES, L. C. K. Otimização dos tempos de mistura e decantação no processo de coagulação/floculação da água bruta por meio da *Moringa oleifera* Lam. **Acta Scientiarum Technology.** Maringá, v. 30, n. 2, p. 193-198, 2008. Disponível em: < http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciTechnol/article/view/5493/5493> Acesso em: 15 jun 2017.

4. CAPELETE, B. C. **Emprego da quitosana como coagulante no tratamento de água contendo *Microcystis aeruginosa* - avaliação de eficiência e formação de**

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

trihalometanos. 2011. 127f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos). Universidade de Brasília. Faculdade de Tecnologia, Departamento de Eng. Civil e Ambiental. Brasília/DF, 2011. Disponível em: < http://ptarh.unb.br/wp-content/uploads/2017/03/Capelete-B-C-Disserta%C3%A7%C3%A3o-Mestrado-1.pdf> Acesso em: 15 jun 2017.

5. CORDEIRO, J. S. Processamento de lodos de Estações de Tratamento de Água (ETAs). *In*: ANDREOLI, Cleverson Vitório. **Resíduos sólidos do saneamento:** processamento, reciclagem e disposição final. Rio de Janeiro: Rima. p. 121-141, 2001. Disponível em: <http://www.unigaia-brasil.org/Cursos/Apresenta/PDFs/Marcelo/Agua/APROVEIT.PDF#page=140> Acesso em: 02 jun 2017.

6. DI BERNARDO, A. S. **Influência das condições de aplicação de polímeros catiônicos na eficiência da floculação.** 2000, 207 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharias de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Carlos, 2000. Disponível em: < http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/18/18138/tde-02122015-112130/pt-br.php>. Acesso em: 17 mar 2018.

7. LENZ, G. F.; ZARA, R. F.; OSTROWSKI, J. Perspectivas da aplicação de polímero obtido do cacto mandacaru (*Cereus jamacaru*) como floculante no tratamento de água. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA (SICITE), 17., 2012, Paraná. **Anais.** Paraná. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2012. Disponível em: < http://proxy.furb.br/ojs/index.php/rea/article/view/2935>. Acesso em: 15 maio 2017.

8. LENZ, G. F. ZARA, R. F.; THOMAZINI, M. H. Ação de polímero natural, extraído do cacto mandacaru (*Cereus jamacaru*), no tratamento de água. In: ENCONTRO DE DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA, 3., 2011, Paraná. **Anais**. Paraná: Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2011.

9. LIMA, G. J. de A. **Uso de polímero natural do quiabo como auxiliar de floculação e filtração em tratamento de água e esgoto.** 2007, 113f. Dissertação (Mestre em Engenharia Ambiental). Faculdade de Engenharia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2007. Disponível em: < http://www.peamb.eng.uerj.br/trabalhosconclusao/2007/GuilhermeJulioMdeAbreuPEAMB_2007.pdf> Acesso em: 12 jun 2017.

10. MARTINEZ, D.; CHÁVEZ, M. DÍAZ, A.; CHACÍN, E.; FERNÁNDEZ, N. Performance of *Cactus lefaria* to use like coagulating in the water clarification. **Revista Téc. De la Facultad de Ingeniería. Universidad del Zulia**. v.26. n.1. Abr. 2013. Disponível em: <http://200.74.222.178/index.php/tecnica/article/view/5794 >. Acesso em: 06 jul 2017.

11. MILLER, S.; FUGATE, E. J.; CRAVER, V. O.; SMITH, J. A.; ZIMMERMAN, J. B.; Toward understanding the efficacy and mechanism of Opuntia spp. as a natural coagulant for potential application in water treatment. **Environmental science & technology**, v. 42, n. 12, p. 4274-4279, 2008. Disponível em: <http://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/es7025054> Acesso em: 09 jan 2018.

12. SÁENZ, C.; SEPÚLVEDA, E. ; MATSUHIRO, B. **Opuntia spp. mucilage's : A functional component with industrial perspectives**. **Journal of Arid Environments**. v. 57, n. 3. p.275-290, 2004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014019630300106X> Acesso em: 17 mar 2018.

13. SANTOS NETA, M. do S. da S. **Extração, caracterização e aplicação do polímero natural presente no cacto *Melocactus zehntneri* (coroa de frade) e como coagulante/floculante no tratamento de água**. 2016. 40 p. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Licenciatura em Química) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte. Currais Novos/RN, 2016.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

14. SILVA, J. da S. **Estudos da utilização de polímeros naturais como auxiliares de floculação no tratamento de água para fins industriais.** 2012. 114 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Pará. Belém, 2012. Disponível em: <http://repositorio.ufpa.br/jspui/handle/2011/4637>Acesso em: 21 jun 2017.

15. SILVA, T. S. S. da. **Estudo de tratabilidade físico-química com uso de taninos vegetais em água de abastecimento e de esgoto.** 1999. 87 p. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Fundação Oswaldo Cruz. 1999. Disponível em: <http://portalteses.icict.fiocruz.br/pdf/FIOCRUZ/1999/silvatssm/capa.pdf>. Acesso em: 21 jun 2017.

16. SPINELLI, V. A. **Quitosana, polieletrólito natural para o tratamento de água potáve**l. 2001. 146 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Santa Catarina, 2001. Disponível em: < https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/82191>. Acesso em: 15 jun 2017.

17. YIN, Chun-Yang. Emerging usage of plant-based coagulants for water and wastewater treatment. **Process Biochemistry**, v. 45, n. 9, p. 1437-1444, 2010. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511310002114> Acesso em: 09 jan 2018.

18. ZAMPERO, R. **Uso da Semente de *Moringa oleífera* no tratamento do efluente líquido da indústria de vidros.** 2011. 51p. Dissertação (Mestrado Profissional em Sistemas de Produção Agropecuária) Universidade José do Rosário Vellano, Alfenas, MG, 2011. Disponível em: <http://tede2.unifenas.br:8080/jspui/bitstream/jspui/49/1/RosangelaZampero-dissertacaocompleta.pdf> Acesso em: 09 jan 2018.

19. ZARA, R. F.; THOMAZINI, M H; LENZ, G. F. Estudo da eficiência de polímero natural extraído do cacto Mandacaru (*Cereus jamacaru)* como auxiliar nos processos de coagulação e floculação no tratamento de água. **REA - Revista de estudos ambientais (online).** Paraná, v.14, n. 2 esp, p. 75-83, 2012. Disponível em: <http://proxy.furb.br/ojs/index.php/rea/article/view/2935/2078>. Acesso em: 26 mai 2017.

20. ZHANG, J; ZHANG, F.; LUO, Y.; YANG, H. A preliminary study on cactus as coagulant in water treatment. **Process Biochemistry.** v. 41. p.730-733, 2005. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511305003557>. Acesso em: 14 jun 2017.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 1: *Alguns trabalhos utilizando polímeros naturais no tratamento de água.*

Autores/ano	**Polímero natural**
Capelete (2011)	Quitosana
Cardoso, Bergamasco, Cossich e Moraes (2008)	Moringa oleifera
Di Bernardo (2000)	Milho e mandioca
Lima (2007)	Quiabo
Martinez, Chávez, Díaz, Chacín e Fernández (2013)	*Cactus lefaria*
Miller Fugate, Craver, Smith e Zimmerman, (2008)	Opuntia
Oliveira (2015)	*Mimosa tenuiflora*
Santos Neta (2016)	Coroa de Frade (*Melocactus zehntneri)*
Silva (1999)	Taninos
Spinelli (2001)	Quitosana (proveniente de cascas de camarão)
Zampero (2011)	*Moringa oleifera*
Zara, Thomazini e Lenz (2012)	Mandacaru

Fonte: Própria da autora (2017)

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 2: *Estudo das diferentes partes do cacto em 100mL de água (valores de turbidez em UNT).*

Tempo (min)	Sistema A (1g de miolo)	Sistema B (1g de casca)	Sistema C (1g de externa)
0	274,67 ± 0,58	272,67 ± 2,08	273,33 ± 1,53
30	214,00 ± 2,64	111,50 ± 6,36	82,20 ± 1,55
60	104,00 ± 1,41	94,40 ± 2,12	67,80 ± 1,91
90	99,05 ± 0,49	78,85 ± 1,45	53,00 ± 3,39
120	83,50 ± 1,98	67,65 ± 0,07	50,30 ± 2,97
150	80,15 ± 2,76	64,26 ± 0,85	46,60 ± 1,84
180	71,10 ± 2,97	60,85 ± 0,92	36,00 ± 5,51
210	65,80 ± 0,56	53,60 ± 0,28	32,10 ± 5,51
240	62,30 ± 2,40	50,63 ± 1,11	31,50 ± 1,55
300	56,20 ± 0,42	45,50 ± 1,27	25,43 ± 1,98
360	51,05 ± 0,63	27,96 ± 1,36	24,23 ± 1,20
420	43,00 ± 7,21	26,60 ± 1,35	22,70 ± 1,12
480	35,75 ± 1,48	24,50 ± 1,35	21,93 ± 0,90
24 horas	10,11 ± 0,83	17,50 ± 0,42	17,95 ± 0,77

Fonte: Própria da autora (2017).

Tabela 3: *Estudo de diferentes quantidades de cacto em 100mL de água (valores de turbidez em UNT).*

Tempo (min)	Sistema A (0 g)	Sistema B (0,5 g)	Sistema C (1,0 g)	Sistema D (1,5 g)
0	246,33 ± 1,15	246,66 ± 1,52	246,00 ± 1,00	244,66 ± 1,53
30	224,33 ± 0,57	77,63 ± 2,24	56,05 ± 0,77	62,65 ± 1,91
60	215,00 ± 1,00	61,07 ± 1,12	47,00 ± 1,69	51,40 ± 2,82
90	113,50 ± 0,71	56,15 ± 0,92	35,70 ± 2,12	45,35 ± 1,34
120	97,70 ± 0,86	51,03 ± 1,85	28,53 ± 0,91	32,90 ± 1,27
150	93,23 ± 2,15	47,80 ± 0,62	25,93 ± 0,77	27,60 ± 0,56
180	79,10 ± 2,40	38,70 ± 0,84	24,86 ± 0,77	25,70 ± 0,28
210	78,16 ± 1,33	34,63 ± 2,80	24,06 ± 0,58	25,10 ± 0,14
240	73,83 ± 0,72	29,05 ± 1,34	23,46 ± 0,23	23,30 ± 2,00
300	65,10 ± 0,52	26,86 ± 0,60	22,00 ± 0,50	23,00 ± 1,13
360	57,30 ± 0,71	24,40 ± 1,10	21,23 ± 0,75	22,15 ± 0,49
420	55.00 ± 0,14	23,40 ± 0,61	20,66 ± 0,40	21,30 ± 1,47
480	53,40 ± 1,13	22,86 ± 0,49	20,13 ± 0,58	22,20 ± 0,56
24h	17,40 ± 0,78	13,36 ± 1,24	18,20 ± 0,62	15,80 ± 2,96

Fonte: Própria da autora (2017).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 4: *Estudo do efeito da turbidez inicial da água (valores de turbidez em UNT).*

Tempo (min)	1 g de parte externa do cacto/ 100mL de água			
	Sistema A	**Sistema B**	**Sistema C**	**Sistema D**
0	220,00 ± 0,00	246,00 ± 1,00	266,33 ± 0,57	273,33 ± 1,53
30	18,73 ± 0,83	56,05 ± 0,77	72,85 ± 5,73	82,20 ± 1,55
60	15,83 ± 0,72	47,00 ± 1,69	58,55 ± 1,34	67,80 ± 1,91
90	13,13 ± 1,20	32,30 ± 2,69	49,05 ± 0,64	53,00 ± 3,39
120	10,96 ± 0,60	28,53 ± 0,91	36,85 ± 2,05	50,30 ± 2,97
150	9,09 ± 0,54	25,93 ± 0,77	31,75 ± 5,73	46,60 ± 1,84
180	8,71 ± 0,30	24,86 ± 0,77	25,25 ± 2,61	36,00 ± 5,51
210	8,40 ± 0,55	24,06 ± 0,58	23,70 ± 1,27	32,10 ± 5,51
240	7,73 ± 0,34	23,46 ± 0,23	24,40 ± 2,41	31,50 ± 1,55

Fonte: Própria da autora (2017).

Tabela 5: *Estudo do cacto em 100mL de água destilada (valores de turbidez em UNT).*

Tempo (min)	Branco	Sistema A	Sistema A – Branco
0	0,06 ± 0,01	220,00 ± 0,00	219,94 ± 0,01
30	2,87 ± 0,07	18,73 ± 0,83	15,85 ± 0,90
60	3,12 ± 0,27	15,83 ± 0,72	12,71 ± 0,99
90	3,97 ± 0,71	13,33 ± 1,20	9,36 ± 1,91
120	4,12 ± 0,51	10,96 ± 0,60	6,84 ± 1,11
150	4,30 ± 0,46	9,09 ± 0,54	5,60 ± 1,00
180	4,54 ± 0,07	8,71 ± 0,30	4,17 ± 0,37
210	4,33 ± 0,45	8,40 ± 0,55	4,07 ± 1,00
240	5,50 ± 0,51	7,73 ± 0,34	2,23 ± 0,85

Fonte: Própria da autora (2017).

Tabela 6: *Estudo da ação do Mandacaru no pH da água.*

Tempo (min)	1 g de parte externa do cacto/ 100mL de água			
	Sistema A	**Sistema B**	**Sistema C**	**Sistema D**
0	7,76 ± 0,05	7,74 ± 0,03	7,94 ± 0,02	8,18 ± 0,03
30	7,63 ± 0,05	7,43 ± 0,05	7,71 ± 0,02	7,65 ± 0,03
60	7,55 ± 0,04	7,38 ± 0,02	7,69 ± 0,00	7,60 ± 0,09
90	7,64 ± 0,11	7,40 ± 0,06	7,67 ± 0,00	7,61 ± 0,05
120	7,63 ± 0,27	7,35 ± 0,07	7,61 ± 0,02	7,65 ± 0,01
150	7,69 ± 0,03	7,38 ± 0,03	7,66 ± 0,02	7,66 ± 0,01
180	7,72 ± 0,06	7,48 ± 0,05	7,68 ± 0,01	7,66 ± 0,01
210	7,76 ± 0,35	7,53 ± 0,06	7,66 ± 0,03	7,70 ± 0,03
240	7,82 ± 0,02	7,57 ± 0,04	7,20 ± 0,75	7,68 ± 0,04

Fonte: Própria da autora (2017).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

MONITORAMENTO DE RESÍDUOS DE AGROQUÍMICOS EM ERVAS SECAS COMERCIAIS UTILIZANDO GC-MS-SIM

MONITORING RESIDUES OF AGROCHEMICALS IN COMMERCIAL DRIED HERBS USING GC-MS-SIM

DE LIMA, Rayani Almeida[1]; DE MEDEIROS, Giovana Mendonça[1]; UEKANE, Thais Matsue[2]; DE REZENDE, Claudia Moraes [3]; and ALVES, Andréa Aparecida Ribeiro[1*]

[1]Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal Fluminense, Rua Desembargador Ellis Hermydio Figueira, 783, Aterrado, Volta Redonda - RJ, Brasil, CEP: 27213-145 (phone +55 24 3076 8986)

[2]Departamento de Bromatologia, Universidade Federal Fluminense, Rua Mário Viana, 523, Santa Rosa, Niterói - RJ, Brasil, CEP: 24241-002 (phone +55 21 2629 9592)

[3]Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Avenida Athos da Silveira Ramos, nº 149, Bloco A, Centro de Tecnologia, Rio de Janeiro-RJ, Brasil, CEP: 21941-909 (phone +55 21 3938 7001)

** Autor correspondente*
e-mail: aaralves@id.uff.br

Received 15 April 2018; received in revised form 31 May 2018; accepted 3 june 2018

RESUMO

As ervas aromáticas secas apresentam muitos compostos químicos precursores de aromas agradáveis, o que justifica seu uso na culinária. No entanto, como qualquer produto agrícola, estão sujeitas a contaminações por resíduos de agrotóxicos. O *Codex Alimentarius* Internacional é o órgão que regulamenta as normas e limites máximos de resíduos permitidos em uma cultura e, no Brasil, o órgão responsável pela regulamentação é a ANVISA. O objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar um método para monitorar resíduos dos agrotóxicos aldrin, dicofol, dieldrin e metidationa em ervas aromáticas secas de manjericão, alecrim, orégano, erva doce, louro e cravo-da-índia utilizando a extração em fase sólida para o *cleanup* e pré-concentração dos agrotóxicos e a GC-MS-SIM. O método foi validado de acordo com os parâmetros de seletividade, linearidade, exatidão, precisão intermediária, limite de detecção e qualtificação. Na exatidão, obtiveram-se valores acima de 90 % para todos os compostos; a precisão intermediária avaliada pelo DPR variou de 2,4 a 3,1 % e os limites de detecção e quantificação dos agrotóxicos ficaram entre 0,21 a 1,65 mg L^{-1} e 0,62 a 5,00 mg L^{-1}, respectivamente. Estes parâmetros encontraram-se dentro dos valores aceitáveis pela ANVISA. O método proposto foi aplicado em 34 amostras comerciais de ervas aromáticas secas, não sendo detectado ou quantificado resíduos dos agrotóxicos estudados nas mesmas.

Palavras-chave: agroquímicos, ervas secas, GC-MS-SIM, resíduos.

ABSTRACT

Dried herbs presents several chemical compounds that are precursor of pleasant aroma, which justifies its use in cooking. However, as in every agricultural product, they are subject to have agrochemical residue contamination. International *Codex Alimentarius* is the responsible for regulation, standardization and establishment of maximum residue limits allowed in each culture, and in Brazil, ANVISA is responsible for this regulation. The aim of this work was to develop and validate a method to monitor the agrochemicals aldrin, dicofol, dieldrin, and methidathion in basil, rosemary, oregano, fennel, bay leaf and clove dried herbs, using solid phase extraction and GC-MS-SIM. The method was validated according to the selectivity, linearity, accuracy, intermediate precision, limit of detection and quantification parameters. Accuracy results were higher than 90 % for all agrochemicals; intermediate precision assessed as RSD, ranged from 2.4 to 3.1 %; detection of limit and quantification of limit were between 0.21 to 1.65 mg L^{-1} and 0.62 to 5.00 mg L^{-1}, respectively.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Validated parameters were within acceptable values for ANVISA. The developed method was applied to 34 commercial samples of dried herbs, and any of the agrochemicals studied were detected or quantified in these samples.

Keywords: agrochemicals, dried herbs, GC-MS-SIM, residues.

INTRODUCTION

Dried herbs are plants that contain several chemical compounds, volatile and non-volatile, that release pleasant aromas, giving flavor and odor to foods and are thus widely used in cooking. These herbs are culturally known for their beneficial effects healthy, with reported digestive, anti-inflammatory, antimicrobial, antioxidant and anticancer activities due to the presence of bioactive compounds such as terpenoids and phenolic compounds (Guiné, 2016).

Agricultural products, including dried herbs, are subject to insect attack and disease both in the field and during their storage and, therefore, chemical compounds are generally used for their protection, such as pesticides (Łozowicka *et al.*, 2014), thus avoiding losses of productivity.

According to the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), pesticide is any substance or mixture of substances of chemical or biological ingredients intended to repel, destroy or control any pest or regulate the growth of the plant (FAO, 2017a).

The world market for agrochemicals has increased significantly in recent years, reaching a value of around US$ 52 billion in 2013, with a projection of increase to US$ 76 billion by 2019 (Caldas, 2016). In addition, dried herbs market is expanding due to their high demand based on their phytotherapeutic properties and the search for natural options in food. As a result, it is necessary to increase agricultural production, which currently in Brazil is associated with the use of agrochemicals and fertilizers. Despite the agricultural benefits of agrochemicals uses, contamination can occur through the transfer of their residues from plants to animals or humans through bioaccumulation in the food chain, direct contamination during the agricultural activities or through the ingestion of contaminated food (Nantia *et al.*, 2017).

Literature reports that agrochemicals residues can have damaging effects to human health, from short-term impacts such as headaches and nausea to chronic impact that can lead to cancer, reproductive damage and endocrine disorders (Jasim *et al*., 2017). For this reason, it is very important to monitor levels of these agrochemicals residues found in crops to ensure the safety in consumption of food by the population (Sadowska-Rociek *et al*., 2013).

In the world, the monitoring of agrochemicals residues in food is based on their maximum residue limits (MRLs), which is the maximum concentration of an agrochemical residue, expressed in mg kg^{-1}, regulated by the *Codex Alimentarius* Commission that is legally permitted in food crops (FAO, 2017b) and in Brazil, these values are registered by the monographs of the ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2017).

The gas chromatography coupled to mass spectrometry (with quadrupole analyzer) using selective ion monitoring (GC-MS-SIM) has been applied for agrochemicals residues analysis in food matrices due to its high sensitivity and selectivity, these conditions are essentials for the quantification of trace elements. Cherta *et al*., (2013) used GC-MS-SIM for the analysis of several agrochemical residues from different classes in fruits and vegetables, such as organophosphates, organochlorines and fungicides .This technique has been reported for organophosphates, organochlorines agrochemicals (Alves *et al*., 2012) and fungicides (Rodrigues *et al*., 2017) analysis in citric essential oils and Brazilian whole grape juice (Alves *et al*., 2014).

Organophosphates agrochemicals (OP), for example methidathion, are compounds soluble in water, which favors their degradation in the environment, their good results in pest and disease control, nevertheless they are classified as moderate toxic according to ANVISA. Therefore, its excessive application is a concern factor once it could generate several risks to human health, even at low levels (Łozowicka *et al.*, 2014; Dou *et al*., 2015).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Organochlorines agrochemicals (OC), for example aldrin, dieldrin and dicofol, are known as systemic chemical compounds, that is, they have high persistence in nature, chemical stability and low solubility in water, which have made the OC subject to governmental restrictions and prohibitions since the 1990s. Even today contamination by these OC compounds in several food matrix (Cherta *et al*., 2013; Alves *et al.*, 2012; Rodrigues *et al*., 2017; Alves *et al*., 2014) are observed, since they remain active for years, mainly in the soil, accumulating in the food chain and contaminating the region in which they were applied (Santos *et al*., 2015). It is important to point out that neither OP and OC agrochemicals are allowed in dried herbs crops in the world.

Solid phase extraction (SPE) is very efficient technique to promote cleanup in complex samples, such as those food matrices (Alves *& Barbosa*, 2018) as well as for the preconcentration of the analytes of interest.

The aim of this article was to develop and validate a method for residues of aldrin, dieldrin, dicofol and methidathion in basil, rosemary, oregano, fennel, bay leaf and clove dried herbs using solid phase extraction (SPE) and gas chromatography coupled to mass spectrometry with selective ion monitoring (GC-MS-SIM). The proposed method was applied to the analysis of 34 commercial dried herbs.

MATERIALS AND METHODS

2.1. *Materials*

Six commercial dried herbs (basil, rosemary, oregano, fennel, bay leaf and clove) (Figure 1.) from different brands were acquired in a local supermarket in Volta Redonda City (RJ, Brazil), with a total of 34 samples these were coded presented in Table 1.

Commercial agrochemical standards were from Dr. Mark Ehrenstorfer GmbH® (Germany) and *n*-eicosane, used as internal standard (IS) was from Sigma-Aldrich®, all standards have purity over 99 % (Table 1).

Solid phase extraction (SPE) was performed with a Florisil stationary phase cartridge (Waters Mark, 2 mL, Sep-Pak, code 227932341A). Pure for analysis acetone (Dynamics, Brazil - lot 79418) was used for cartridge conditioning, for elution hexane (Dynamics, Brazil - lot 81160) and ethyl acetate (Dynamics, Brazil - lot 80580) were used.

2.2. Instrumentation and Operating Conditions for GC-MS-SIM

The Agilent Technologies® (Califórnia, EUA) GC (Model 7820A) coupled with a 5977E mass detector (with quadrupole analyzer) and a *7683B* Automatic Liquid Sampler was used in the research work.

The GC separation was carried out on a DB5-MS (Agilent 122-S002) column with 30 m length, 0.25 mm I.D., and film thickness 0.25 µm from Agilent Technologies® (Califórnia, EUA) with an injection volume of 1 µL.

The oven temperature gradient was started at 100 °C and held for 1 min. Then it was raised to 180 °C at the rate of 20 °C min^{-1}, followed by an increase rate of 3 °C min^{-1} to 220 °C and an increase rate of 20 °C min^{-1} to 310 °C, with a total run time of 20.7 minutes.

Helium, 5.0 analytical grade, was used as a carrier gas with a constant flow rate of 0.8 mL min^{-1} with split mode 1:50. The injector temperature, transfer line, ion source and the quadrupole analyzer were kept at 270 °C, 290 °C, 230 °C and 150 °C, respectively.

The mass spectrometry in electron impact (EI) mode at 70 eV was utilized for sample ionization with a solvent delay of 4.0 minutes. The GC-MS spectra for agrochemicals and internal standards were obtained through the injection of the solutions and scanning in the range of *m/z* 50–700. Standard solutions mass spectra were compared with the NIST 14 library from the GC-MS solution software. Three diagnostic ions were selected for each compound for the creation of the selective ion monitoring method (SIM) for validation and analysis of real samples.

2.3. *Preparation of agrochemicals and internal standard stock solution*

The standard solutions of agrochemicals and the internal standard (IS) (Table 1) were prepared in concentrations by weighing in an analytical balance (Bioscale model no. 2204, N / S 20140148, with four decimal places) 10.0 mg of

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

each the standard separetly, adding hexane to the volume of 10.0 mL to obtain a final concentration of 1.0 mg mL^{-1} each.

2.4. *Multielemental solution*

From the stock standard solutions a multi-component solution containing the agrochemicals and the IS, named working solution was prepared. An aliquot of 100 µL from each standard solution was withdrawn and placed in a vial, where hexane was added to make up to 1.0 mL, which resulted in a solution with a concentration of 100 µg mL^{-1} of each standard.

2.5. *Sample preparation*

Dried herbs extract were prepared from the maceration and/or cutting of 5 g of each herb, weighted in an analytical balance (DIAMOND MODEL A04 500 g / 0.1 g) and then extracted with 10 mL of hexane (Figure 2.). The hexane solution was allowed to stand for 1 hour in a closed flask and, after filtrated to remove the plant material, and then the solvent was completely dried under vacuum. To this dried extract, 3 mL of hexane was added to obtain the final extract of the dried herb.

2.6. *SPE analysis of dried herbs extract*

For the SPE extraction of samples, Florisil stationary phase EFS cartridges (2 mL) (Figure 3.) were conditioned with 1 mL of acetone. Hexane extract (2 mL) of the dried herb, prepared as described above, was passed through the SPE cartridge, after 1.5 mL of ethyl acetate and 1.5 mL of hexane were eluted in the cartridge and collected in a single fraction. The eluted solvents were completely dried under nitrogen then 2 mL of hexane was added and the extract was stored under refrigerator. The elution occurred by positive gravity, without automation or vacuum application.

2.7. *Method validation*

For method validation, the basil sample was used, that had been previously checked for the absence of the agrochemicals of interest (blank). This basil sample was chosen once it had fewer peaks of compounds in the retention time regions of the investigated analytes, assessed through the agrochemicals retention times used in this research. From this blank sample extract, the analytical parameters of selectivity, linearity, accuracy, intermediate precision and limits of detection (LD) and quantification (LQ) were evaluated.

Linear working range used for the construction of analytical curves was between 1 and 25 mg L^{-1}. The analytical curves were built from five different concentrations of the agrochemicals standards (1, 5, 10, 15 e 25 mg L^{-1}), analyzed in triplicate and internal standard concentration was fixed concentration of 10 mg L^{-1}. The linearity was evaluated by measuring the area ratio for each analyte to the IS over the range of the analytical curve and the obtained data were subjected to statistical analysis using a linear regression model. ANVISA recommends five levels of concentration and replicates of at least three to obtain good linearity assessment with low relative standard deviation (RSD) (Ribani *et al*., 2004).

Limits of detection (LD) and quantification (LQ) values were obtained from linear regression equations for each agrochemical according to the equations: LD = 3.3 x (s/S) and LQ = 10 x (s/S). Where, the s e S values were correspondent to the linear coefficient and the slope of the analytical curves, respectively (Ribani et al. 2004).

Intermediate precision, assessed by repeatability experiments was calculated by the relative standard deviation (RSD), expressed by the equation: RSD (%) = $(s/X_m) \times 100$. Where s is the absolute standard deviation, X_m is the mean area ratios of the agrochemical and IS, obtained from the five concentrations analysis, in triplicate, of the analytical curve.

Accuracy, assessed by recovery, was calculated by spiking known amounts of agrochemicals standards in the blank extract. Agrochemical concentration values from the analytical curves plotted, as for linearity experiments, were calculated and from these values the percentage of recovery was assessed, as the difference between the amount spiked of each standard to the sample and the calculated value obtained by the analytical curves.

RESULTS AND DISCUSSION

For the method validation, blank extracts of basil dried herb were used, whose time region between 12 to 18 minutes, where the

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

agrochemicals standards studied eluted (Figure 4. magnified window), no compounds from the dried herb matrix could be detected that could interfere with these compounds analysis.

From the GC-MS scan spectra for agrochemicals and internal standards (*m/z* 50–700), it was possible to assess retention times from each standard and to select the three characteristics ions, presented in Table 2.

The linearity was evaluated by the analytical curve using a linear regression model and results of this regression and correlation coefficient (R) are presented in Table 3. The analytical curves were constructed from the ratio between the agrochemicals and the internal standard areas, using Microsoft Excel® software.

Correlation coefficient (R) were higher than 0.990 for all agrochemicals studies and these values were considered with good fit to the linear regression model applied, according to ANVISA and INMETRO acceptance levels of 0.990 and 0.900, respectively (Ribani *et al*., 2004).

The method for LD and LQ calculation based on the analytical curves parameters was chosen once it was statistically more reliable (Ribani *et al*., 2004), which results are presented in Table III. LD and LQ values ranged from 0.21 to 1.65 mg L^{-1} and 0.62 to 5.00 mg L^{-1}. These parameters are important for method development and validation once they can suggest compliance from legal limits established of any compound (Ribani *et al*., 2004). However, for the agrochemicals studied in this article *Codex Alimentarius* Internacional (FAO, 2017b) and ANVISA (2017) do not established values of MRLs for dried herbs. Thus, the values found for LD and LQ were considered satisfactory.

To evaluate the intermediate precision and recovery of the method, the RSD % and recovery were calculated, respectively and the results are shown in Table 4.

ANVISA establishes that RSD values for intermediate precision should be less than 5 % (Ribani *et al*., 2004) and recovery values should be between 70 and 120 %. All RSD % values were below 3.1 % in the validated method and recoveries were higher than 90.6 % for all the agrochemicals compounds, thus the values obtained were considered satisfactory. Based on these informations, the validation method proposed presented good precision and accuracy.

Comparing the present validated method with other works described in the literature, it is observed that the analytical parameters were in agreement. Nguyen *et al.* (2010) validated a method for the determination of agrochemicals in two types of Korean dried herbs using GC-MS, whose recovery values of aldrin, dicofol and dieldrin ranged from 78 to 102 %. Słowik-Borowiec (2015) analyzed agrochemicals residues in mint and obtained recovered values of 84 % and 92 % for aldrin and dieldrin, respectively, with 6 % repeatability for both compounds.

For the final phase of this research, the validated method was applied to 34 commercial dried herbs samples to verify and monitor residues of the agrochemicals studied. As a result of this analysis it was observed that no agrochemical residue was detected or quantified in these samples, if these agrochemicals residues were present, they were with values below the LD and LQ of the validated method.

Hou *et al*. (2016) analyzed agrochemicals residues of different classes (pyrethroids, organochlorines, organophosphates, among others) in 20 samples of dried green tealeaves using GC, and also did not quantify residues of within their samples. In a similar study, Pareja *et al.* (2015) obtained similar results in the analysis of multiresidue agrochemicals where they analyzed 9 real samples of dried leaves of yerba mate (*Ilex paraguaiensis*). Sadowska-Rociek *et al.* (2013) detected dieldrin in fresh herbs of rosemary, oregano and basil, but also did not quantify these residues in the samples.

In Brazil, nowadays, there is no law that defines the levels of agrochemicals residues in dried herbs, there is only regulation concerning the definition of herbs, condiments and spices, their different classifications and how the preparation of tea and others from these herbs should be. Therefore, this work could help the government authorities to elaborate a possible standardization regarding the residues of agrochemicals in dried herbs, since these are continuously consumed by the population and so should be monitored. In view of the results obtained from this study, one can consider a positive point for the sanitary and health issue of

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

the country, since no agrochemical residues were quantified in the commercial samples studies.

CONCLUSIONS

In this article, a method was developed and validated for the analysis of agrochemicals residues in dried herbs using SPE and GC-MS-SIM. The results obtained through the validation parameters indicated that the SPE proved to be efficient in the extraction and pre concentration of these residues and GC-MS-SIM a good technique for this investigation, since it allowed sensitivity and selectivity of the agrochemicals chosen for study. The analytical parameters were within the values established by ANVISA, thus giving credibility to the validated method.

The validated method was applied to 34 commercial samples of dried herbs of rosemary, basil, fennel, bay leaf and clove, and no agrochemicals residue were detected or quantified in these samples, which was positive for sanitary purposes and country health. However, since there are no law governing agrochemicals residues in this type of sample, it is important that there be further monitoring, given the wide use of herbs by the population, so it is expected that this work will contribute to this end.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to the Universidade Federal Fluminense (UFF), the Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) and the Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) for research support (APQ1).

REFERENCES

1. Alves, A.A.R.; Barbosa, E.S. *Period. Tchê Quim*. **2018**, 15, 29, 82.

2. Alves, A.A.R.; Rodrigues, A.S.; Barros, E.B.P.; Uekane, T.M.; Bizzo, H.R.; Rezende C.M. 2014. *Food Anal. Method*, **2014**, 7, 1834.

3. Alves, A.A.R.; Rezende, M.J.C.; Hovell, A.M.C.; Bizzo, H.R.; Oliveira, A.C.L.; Rodrigues, S.V.; Rezende, C.M. *J. Braz. Chem. Soc.*, **2012**, 23, 306.

4. ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). *Agrotóxicos*. **2017**. http://portal.anvisa.gov.br/registros-e-autorizacoes/agrotoxicos/produtos/monografia-de-agrotoxicos/autorizadas Accessed April 2018.

5. Caldas, E.D. *Pesticide Poisoning in Brazil. **2016**.* Ed. Elsevier. https://www.researchgate.net/publication/308013830_Pesticide_Poisoning_in_Brazil Acessed April 2018.

6. Cherta, L., Beltran, J, López F, Hernández F. *Food Anal. Method*. **2013**, 6, 4, 1170.

7. Dou X, Chu X, Kong W, Luo J, Yang M. *Anal. Chim. Acta*. **2015**, 891, 291.

8. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). *Codex Pesticides Residues in Food Online Database.* **2017a**, http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/en/ Accessed April 2018.

9. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). *Commodities and Development Report 2017*. **2017b**, http://www.fao.org/3/a-i7937e.pdf Acessed April 2018.

10. Guiné, R.P.F.; Gonçalves, F.J. *Mini. Rev. Med. Chem.* **2016**, 16, 11, 855.

11. Hou X, Lei S, Guo L, Qiu S. *Braz. J. Pharmacogn.* **2016**, 26, 4, 401.

12. Jasim, H.H.; Dikran, S.B.; Mahdi, A.S.; Altahir, B.M. *Br. J. Anal. Chem*. **2017**, 4, 14, 25.

13. Łozowicka, B.; Jankowska, M.; Rutkowska, E.; Hrynko, I.; Kaczyński, P.; Miciński, J. *J. Nat. Med*. **2014**. 68, 1, 95.

14. Nantia, E.A.; Moreno-González, D.; Manfo, F.P., Gámiz-Gracia, L.; García-Campaña, A.M. *Food Chem*. **2017**, 216, 334.

15. Nguyen, T.D.; Lee, K.J.; Lee, M.H.; Lee, G.H. *Microchem. J*. **2010**, 95, 1, 43.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

16. Pareja, L.; Niell, S.; Vryzas, Z.; González, J.; Cesio, M.V.; Mourkidou, E.P.; Heinzen, H. *Braz. J. Pharmacogn*. **2015**, 25, 2, 98.

17. Ribani, M.; Bottoli, C.B.G.; Collins, C.H.; Jardim, I.C.S.F. *Quím. Nova*. **2004**, 27, 5 771.

18. Rodrigues, A.S.; Barbosa, E.S., Alves, A,A,R. *Rev. Analytica*. **2017**, 15, 87, 10.

19. Sadowska-Rociek, A.; Surma, M.; Cieślik, E. *Bull. Environ. Contam.Toxicol*. **2013**, 90, 4, 508.

20. Santos, J.S.; Schwanz, T.G.; Coelho, A.N.; Heck-Marques, M.C.; Mexia, M.M.; Emanuelli, T.; Costabeber, I. *Food Control*. **2015**, 53, 23.

21. Slowik-Borowiec, M. *Food Anal. Method*. **2015**, 8, 6, 1413.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil



Figure 1. *Six commercial dried herbs used in this work: basil, oregano, bay leaf, clove, rosemary and fennel.*



Figure 2. *Extracts, in hexane, of dried herbs, previously weighed, macerated and/or cut.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

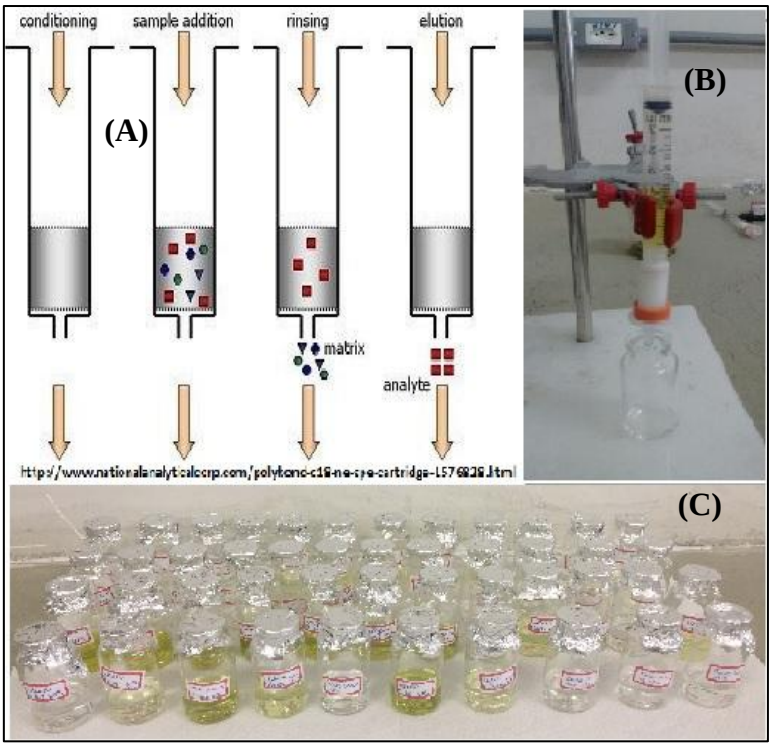


Figure 3. *SPE extraction: (A) steps, (B) extraction of a basil sample and (C) samples after extraction*

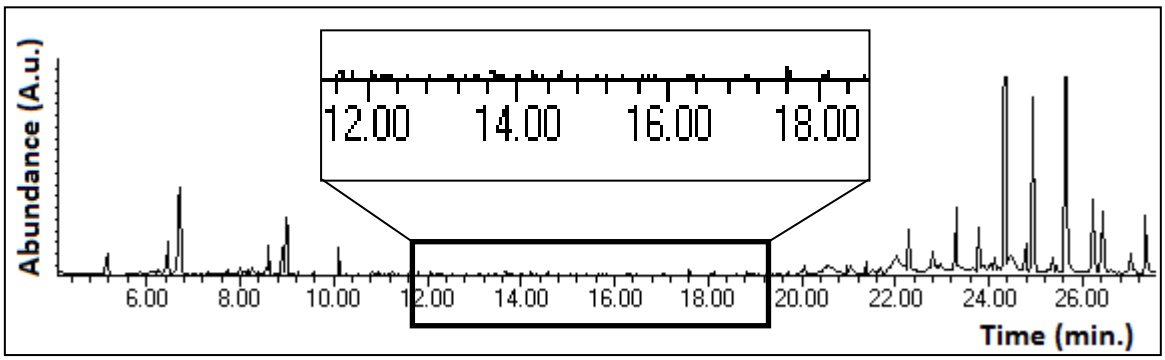


Figure 4. *Blank chromatogram of basil sample extract obtained from GC-MS analysis in scan mode; magnified time window 12 to 18 minutes*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 1. *Dried herbs samples and standard information's used in the present study*

Dried herbs	Code (commercial brands)	Scientific names
Rosemary	BAP, CHI, DSA, KIT, ROC, SAB	*Rosmarinus officinalis* L.
Oregano	BAP, CHI, DSA, KIT, ROC, SAB	*Origanum vulgare*
Fennel	BAP, CHI, DSA, KIT, ROC, SAB	*Pimpinela anisum*
Clove	BAP, CHI, DSA, KIT, ROC, SAB	*Caryophilus aromaticus*
Bay leaf	BAP, CHI, DSA, KIT, ROC, SAB	*Laurus nobilis*
Basil	BAP, KIT, ROC, SAB	*Ocimun basilicum* L.
Agrochemical	**IUPAC***	
Aldrin	1,2,3,4,10,10-Hexachloro-1,4,4a,5,8,8a-hexahydro-1,4:5,8-imethanonaphthalene	
Dieldrin	1aR,2R,2aS,3S,6R,6aR,7S,7aS)-3,4,5,6,9,9-hexachloro-1a,2,2a,3,6,6a,7,7a-octahydro-2,7:3,6-dimethanonaphtho[2,3-b]oxirene	
Dicofol	2,2,2-trichloro-1,1-bis(4-chlorophenyl)ethanol	
Methidathion	S-2,3-dihydro-5-methoxy-2-oxo-1,3,4-thiadiazol-3-ylmethyl O,O-dimethyl phosphorodithioate	
Internal standard	*n*-eicosane	

* Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC).

Table 2. *Retention times and characteristics ions for each agrochemical standard using GC-MS-SIM*

Compound	R_t (min.)	Characteristic ions *(m/z)*
Organochlorine (OC)		
Aldrin	12.643	263, 265, 293
Dicofol	12.963	139, 141, 250
Dieldrin	16.846	237, 263, 345
Organophosphorus (OP)		
Methidathion	15.279	85, 145, 302
Internal Standard (IS)		
n-Eicosane	12.821	57, 99, 324

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 3. *Linear regression analytical curves, correlation coefficient (R), limit of detection (LD) and quantification (LQ) results for each agrochemical standard from GG-MS-SIM method validated*

Compound	R	Equation	LD (mg L^{-1})	LQ (mg L^{-1})
Organochlorine (OC)				
Aldrin	0.993	y = 5.664x + 1.426	1.65	5.00
Dicofol	0.994	y = 3.542x + 0.567	1.24	3.75
Dieldrin	0.994	y = 3.273x + 0.523	1.32	4.00
Organophosphorus (OP)				
Methidathion	0.990	y = 3.770x + 0.019	0.21	0.62

Table 4. *Intermediate precision and accuracy values calculated for each agrochemical standard from GC-MS-SIM method validated.*

Compound	RSD (%)	Recovery (%)
Aldrin	2.8	91.9
Dicofol	2.4	90.8
Dieldrin	2.5	90.6
Methidathion	3.1	90.8

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INDÚSTRIA DE CELULOSE *FLUFF* DE FIBRA CURTA: VIABILIDADE ECONÔMICA E POTENCIAL ENERGÉTICO

SHORT FIBER *FLUFF* CELLULOSE INDUSTRY: ECONOMIC VIABILITY AND ENERGY POTENTIAL

VALENTIM, Luana Cristina Gomes[1,2,4]; LUCENA, Helena de Andrade Nogueira[1,2,4]; AMARAL, Igor Brumano Coelho[1,2]; COUTO, Luiz Carlos[1,3]; REIS, Arlete Barbosa [1,2,4*].

[1] Federal University of Vales do Jequitinhonha e Mucuri, MGT 367 Highway- Km 583, 5000, Alto da Jacuba, zip code 39100-000, Diamantina – MG, Brazil, (phone: +55 38 3532 1200; +55 38 3532 6800)
[2]Science and Technology Institute,
[3] Forest Engineering Department
[4] Chemistry Engineering Department,

** Corresponding author*
e-mail: arlete.reis@ict.ufvjm.edu.br

Received 11 April 2018; received in revised form 03 June 2018; accepted 10 June 2018.

RESUMO

A indústria de celulose *fluff* de fibra curta, embora sendo ainda uma tecnologia recente no Brasil, dada sua utilização no mercado de absorventes e fraldas descartáveis, vem se destacando de maneira crescente nos últimos anos. Não obstante à busca por fontes alternativas de obtenção de celulose com maior grau de pureza, o presente trabalho teve como objetivo também a redução de impactos ambientais focando na produção de energia através da substituição dos combustíveis fósseis pelos resíduos gerados no processo, como a biomassa e licor negro. Com isso, foi viabilizada a implementação de uma indústria de celulose *fluff* no município de Teófilo Otoni/MG. O estudo seguiu a metodologia de processo produtivo envolvendo a separação da celulose dos outros componentes das fibras de madeira tais como hemicelulose e lignina, utilizando, para tanto, madeira de fibra curta. No âmbito desse contexto, foi possível concluir que, estabelecendo-se a alvura do produto entre 85 a 95%, este apresentará 90% de fibras e 10% de água na sua composição final. Dessa forma, o projeto industrial tem a previsão de produzir 62,5 ton/h de trabalho (operando 24h por dia) e, através de análise econômica, percebeu-se o retorno de investimento no período de quatro meses.

Palavras-chave: *Processo Produtivo, Grau de Pureza, Análise Econômica.*

ABSTRACT

The short fiber *fluff* cellulose industry, although it is still a recent technology in Brazil, given its use in the market for absorbent and disposable diapers, has been increasing in recent years. Regardless of the search for alternative sources of obtaining pulp with a higher degree of purity, the present work also aimed at reducing environmental impacts, focusing on the production of energy, replacing fossil fuels with waste generated in the process, such as biomass and black liquor. Making possible the implementation of a *fluff* pulp industry in the municipality of Teófilo Otoni/MG. The theoretical study followed the production process methodology involving the separation of cellulose from the other components of wood fibers, such as hemicellulose and lignin, using for that, wood short fiber. Within this context, it was possible to conclude that, with the product having a brightness of 85-95%, it will present 90% fibers and 10% water in its final composition. It is also anticipated that the industry will operate 24 hours daily. In this way, the industrial project is expected to produce 62.5 ton / h of work and through economic analysis, the return on investment was realized in the four-month period.

Keywords: *Productive Process, Purity Degree, Economic Analysis.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

A produção de celulose de fibra curta a partir do eucalipto teve início em 1955 pela companhia Suzano Papel e Celulose em fase experimental. No entanto, foi em 1961 que, no Brasil, foi fabricado, pela primeira vez no mundo, um papel totalmente produzido de fibra curta (Hilgemberg e Bacha, 2001).

A disponibilidade do eucalipto no mercado fez com que a produção brasileira de celulose de fibra curta passasse de 1590 toneladas, em 1950, para 51900 toneladas em 1956. No momento pós-guerra, as locomotivas passaram a utilizar óleo diesel e tração elétrica, diminuindo a demanda de madeira como combustível, e o governo paulistano, que já possuía reservas de eucalipto para alimentar as caldeiras dessas locomotivas, passou a fornecer eucalipto como matéria-prima para as indústrias de papel e celulose. Diante disso, a importação de celulose, reduziu de cerca de 73,7% em 1950 para 28,8% em 1960 (Soto, 1992).

A partir da década de 70, a indústria brasileira teve sua participação significativamente incrementada devido à implantação do Segundo Plano Nacional de Desenvolvimento (II PND), feito para enfrentar a crise oriunda do aumento do preço do petróleo, que levou à política de substituição das importações pelas exportações. Consequentemente, no fim da década, em 1977, surgiu o Primeiro Plano Nacional de Papel e Celulose (I PNPC), com o intuito de estimular o crescimento da produção nacional através de subsídios (Mattos e Juvenal, 2002).

Dentro da ótica da política de substituição de importações, um dos setores em foco foi o de papel e celulose. O setor realizou investimentos equivalentes a US$ 6,1 bilhões entre 1989 e 1993, com projetos em execução no valor de US$ 1,5 bilhão e outros em estudo que poderiam representar investimentos de US$ 4,4 bilhões até o final do século, estando todos na dependência da melhoria dos preços internacionais do papel e da celulose, da estabilidade econômica do país e de financiamentos de longo prazo (Silva *et al.,* 2010).

Para esse setor, segundo Coelho e Coelho (2013), a última década foi o momento de concentração industrial, em que as grandes empresas internacionais ampliaram seus canais de distribuição e intensificaram a operação em mercados com elevados potenciais de crescimento.

O setor de papel e celulose no Brasil vem apresentando sucessivos movimentos de expansão de sua capacidade produtiva. Projeções da Associação Brasileira de Celulose e Papel (Bracelpa) apontam uma produção de 22 milhões de toneladas de celulose em 2020, tornando o País o segundo produtor mundial da commodity. Para os papéis, as projeções indicam um crescimento menor da produção no período, elevando-a para a casa de 12 a 13 milhões de toneladas (Bracelpa, 2017).

Dessa forma, pode-se inferir que, no geral, os resultados revelam que a indústria de celulose vem ganhando espaço no âmbito do comércio internacional, diante de uma nova redistribuição espacial da produção, em função do obsoletismo das indústrias europeias, norte-americanas e canadenses e da inserção da celulose de fibra curta nos diferentes estágios de produção (Coelho e Coelho, 2013). Segundo Montebello e Bacha (2013), o Brasil é competitivo no mercado internacional em produtos de baixo valor agregado, como os papéis sulfite ou off-set não revestidos e papéis para embalagens da linha kraft, assim como a celulose de fibra curta. Os autores afirmam que, no caso da celulose de fibra curta, 65% de sua produção nacional tem, atualmente, como destino o mercado externo.

A celulose utilizada no processo de produção pode ser caracterizada de acordo com o comprimento da fibra, podendo ser curta ou longa. O mercado internacional de celulose *fluff* tem desenvolvido os seus produtos a partir da celulose de fibra longa, uma vez que a celulose *fluff* de fibra curta encontra-se em fase de aprimoramento. Apesar de ainda não ser capaz de substituir totalmente a celulose *fluff* de fibra longa, o novo produto é viável para substituí-la em até 70% em algumas aplicações (Celulose Online, 2015). Dessa maneira, a partir de análises das principais tendências que movimentam o mercado nacional e mundial, a indústria de celulose *fluff* de fibra curta surge com o propósito de substituir a celulose *fluff* de fibra longa.

A celulose do tipo *fluff* é utilizada, principalmente, nos segmentos de absorventes e fraldas descartáveis, pela alta capacidade de

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

absorção que oferece e, em 2014, segundo a consultoria RISI (*Pulp and Paper Industry Intelligence*), o mercado brasileiro de celulose fluff demandou cerca de 292 mil toneladas, sendo atendida apenas por importações. Nos próximos cinco anos, a demanda global de fluff deve crescer aproximadamente 3,7% ao ano; no Brasil, para o mesmo período, esse crescimento pode chegar a 4,3% ao ano (Celulose Online, 2015).

No âmbito nacional, Minas Gerais caracteriza-se como um dos principais produtores brasileiros de celulose branqueada de fibra curta. Somente no ano de 2009, o setor de base vegetal respondeu por 53,7% do agronegócio mineiro. Destes, destacam-se 16,5% de participação do setor de celulose e papel, com 17,55 milhões de reais. Além disso, o estado apresenta a maior porcentagem de área plantada de eucalipto do país (Secretaria de Estado de Desenvolvimento Econômico do estado de Minas Gerais – SEDE/MG, 2010).

Como o mercado de celulose de fibra curta ainda se encontra na fase de implantação, o principal objetivo deste trabalho se tornou, então, projetar, teoricamente, uma indústria de celulose de fibra curta do tipo *fluff* no estado de Minas Gerais. Para tanto, fez-se necessário, definir a localização da indústria, realizar os balanços de massa e energia referentes ao projeto, estudos acerca da viabilidade econômica e gasto energético, bem como dos danos e impactos sociais, ambientais e econômicos e dimensionamento dos equipamentos que deveriam ser utilizados durante o processo. O fluxograma apresentado na Figura 1 mostra o ciclo de produção da celulose *fluff* dentro da indústria.

A cidade de Teófilo Otoni – Minas Gerais foi a cidade escolhida para sediar a indústria de celulose *fluff*, por apresentar localização privilegiada em relação ao fornecimento de matéria-prima e ao escoamento da produção. No âmbito desse contexto, as pesquisas realizadas ao longo do trabalho foram embasadas nos seguintes autores: Juvenal e Mattos (2002), Browning (1963), Hilgemberg e Bacha (2001), Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (BNDES, 2006), Associação Brasileira de Celulose e Papel (BRACELPA) (2016) e Canson (2016), com a realização de estudos bibliográficos acerca do processo produtivo da celulose *fluff*, bem como o estudo da rentabilidade, implementação e aplicabilidade desse segmento da celulose.

O Estudo de Viabilidade Econômica é de extrema importância, pois é a partir dele que se torna possível avaliar a aplicabilidade de um projeto frente ao mercado, dando uma maior segurança para que o mesmo seja executado (Fluxo Consultoria, 2017). Os resultados foram embasados em análises dos dados obtidos através dos balanços, dos dimensionamentos e das viabilidades econômica e ambiental. Com isso, pode-se apresentar possíveis melhorias do processo já existente de maneira a reduzir custos, perdas e aumentar a produtividade. De acordo com a necessidade que uma empresa desse porte requer, os valores dos equipamentos, suportes e recursos humanos aqui considerados, puderam ser estimados. (Hoffelder, 2011).

MATERIAIS E MÉTODOS

Abaixo são descritos os processos de análise das viabilidades de mercado, do processo produtivo, econômicas e comerciais.

2.1. Estudo de Mercado

O estudo de mercado é uma ferramenta fundamental para se obter informações valiosas sobre o mercado em que atua ou que pretende dar início. É a partir desse estudo, que se torna possível adquirir um maior conhecimento sobre os clientes, concorrentes e fornecedores, evitando, dessa forma, investimentos inadequados, e tornando o produto mais rentável (SEBRAE, 2013). De acordo com o Departamento de Pesquisa e Estudos Econômicos (DEPEC, 2017) o preço de mercado da celulose convencional gira em torno de US$ 235 por tonelada. Uma vez que não foi encontrada nenhuma referência com relação à celulose *fluff,* foi necessário estabelecer uma estimativa para o preço da mesma, considerando que, apesar de a celulose em questão requerer maiores investimentos, ela é favorecida pelo plantio do eucalipto no Brasil. Portanto, optou-se em extrapolar o valor em 5%. Sendo assim o preço de mercado da tonelada de celulose *fluff* adotado foi de US$ 246,75. Partindo desse pressuposto, foi possível estimar, identificar e determinar os investimentos dos custos operacionais fixos e variáveis.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

2.1.1 Identificação de custos operacionais fixos e variáveis

Inicialmente, fez-se necessário identificar todos os prováveis custos fixos e variáveis. Os custos fixos são aqueles que não têm ligação com o nível de produção ou atendimento. Eles irão existir mesmo que não haja produção. Os custos variáveis, por sua vez, são dependentes do volume de produção ou atendimento, e, portanto, acompanham esses dois indicadores (SEBRAE-DF, 2009).

2.1.2 Determinação dos investimentos fixos e variáveis

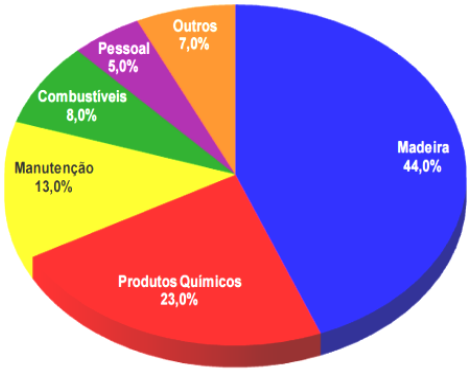
Para a implementação e funcionamento de uma empresa é indispensável a realização do estudo de investimentos para estimar o total de recursos financeiros necessários. Em geral, a determinação desses investimentos se baseia em fixos e variáveis. Os investimentos fixos estão relacionados a todos os custos de implementação da indústria, e compreende gastos com terreno, máquinas e equipamentos, móveis e utensílios, entre outros gastos pré-operacionais. Já os investimentos variáveis compreendem os recursos financeiros que permitem que a empresa comece a funcionar, como a aquisição de matéria-prima, pagamento de impostos e fornecedores, e demais despesas operacionais (SEBRAE-DF, 2009). Assim sendo, fez-se o levantamento dos equipamentos necessários para operar o empreendimento e o levantamento dos equipamentos de proteção individual e coletiva dos trabalhadores. A partir desse levantamento foram efetuados os orçamentos de investimento fixo e investimento variável da empresa.

2.1.3 Fluxo de caixa

O fluxo de caixa é uma ferramenta que auxilia as empresas a visualizarem todas as entradas e saídas de recursos financeiros em um período pré-determinado. Essa previsão financeira tem como propósito obter as possibilidades de sucesso do investimento, dando suporte ao empresário na melhoria dos seus negócios e evitando possíveis prejuízos (SEBRAE, 2013). Para empresa de celulose *fluff* de fibra curta, considerou-se o período de um mês, onde foram analisados os lucros e gastos que a mesma consegue arrecadar nesse intervalo de tempo.

2.1.4 Gasto Mensal

Os custos de produção e comercialização serão determinados a partir de todos os custos fixos e variáveis, que tem, portanto, influência direta no preço final do produto de interesse. Os custos fixos estão correlacionados com os gastos que independem do processo produtivo e da venda do produto, como, por exemplo, as contas de água, luz e internet, salário dos funcionários, aluguel entre outros. Já o custo variável irá depender do volume de produção, e compreende as despesas com as matérias-primas e impostos (SEBRAE, 2016). Para a produção de celulose, os custos de produção podem ser estimados a partir da Figura 2, que apresenta o gráfico da produção mensal de celulose.



Referência: DEPEC, 2017

Figura 2. *Gráfico da produção de celulose*

RESULTADOS E DISCUSSÕES

O levantamento de investimento fixo, resultou no montante igual a R$ 28.561.117,19 para a relação dos seguintes itens: esteiras transportadoras 01 e 02, picador de disco com múltiplas facas, peneira vibratória, secador, reatores, digestor, hidrociclones, lavadores Drum Displacer, trocadores de calor, bombas, válvulas, computadores, impressoras multifuncionais, conjunto de móveis da recepção, escritório e sala de controle, utensílios escritório e automóveis.

Para o investimento variável, o levantamento resultou em R$ 21.860,95 referentes à relação de equipamentos de proteção individual e coletiva, tais como: capacetes, protetores auditivos, óculos de proteção, luvas, calçados, cinturões de

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

segurança com dispositivo trava-queda, extintores, mangueiras de incêndio, kites de primeiros socorros, hidrantes, sistemas de sinalização de segurança e sensores de alerta de entrada e saída de veículos.

A partir da relação de valores, e sabendo que o território no qual a indústria será implantada, assim como o gasto com a construção, estimado em R$2.500.000,00, tem-se que o valor total gasto para implementação da indústria de celulose *fluff* será de R$31.082.978,14.

Com base nas Tabelas 1 e 2, foi possível obter o custo operacional, que para a indústria em questão será de R$ 27.839.157,42. O número de funcionários foi estimado para um período de funcionamento que compreende 3 turnos, onde apenas os técnicos de operação, operadores, porteiros e seguranças exercerão as suas funções a partir de escalas, os demais funcionários atuarão em horário comercial.

No que tange ao processo produtivo, para atender a produção diária de 1500 toneladas de celulose *fluff,* faz-se necessária a quantidade de 3.700 toneladas de madeira por dia.

Tabela 1. *Relação dos custos fixos*

Especificação	Quantidade	Preço unitário (R$)	Preço total (R$)
Engenheiro Químico	3	5.300,00	15.900,00
Supervisor	3	3.400,00	10.200,00
Chefe Administrativo	1	2.300,00	2.300,00
Técnico de Operação	3	2.000,00	6.000,00
Técnico em Mecânica	2	2.000,00	4.000,00
Técnico em Elétrica	1	2.000,00	2.000,00
Técnico Meio Ambiente	1	2.000,00	2.000,00
Analista de RH	1	2.000,00	2.000,00
Auxiliar administrativo	2	1.200,00	2.400,00
Operador	45	1.200,00	54.000,00
Porteiro	3	987,00	2.961,00
Segurança	3	987,00	2.961,00
Auxiliar Serviços Gerais	6	987,00	5.922,00
Água	-	350.000,00	350.000,00
Energia elétrica	-	10.000,00	10.000,00
Internet e telefone	-	3.000,00	3.000,00
Total			**475.644,00**

Referência: Autoria própria

Tabela 2. *Relação dos custos variáveis*

Especificação	Valor (R$)
Madeira	13.875.000,00
Produtos Químicos	7.252.840,91
Combustíveis	2.522.727,27
Manutenção de equipamentos	3.712.945,23

Referência: Autoria própria

Receita**:** A receita bruta de uma indústria é dada pela renda total que essa consegue adquirir com a venda de seus produtos. Para indústria em questão, o preço da tonelada de celulose *fluff* adotado é de US$ 246,75. Tomando como base a cotação do dólar em 28/08/2017, que era de R$3,16 o valor da tonelada de celulose *fluff* seria, portanto, de R$779,73. Considerando que a fábrica irá produzir 62,5 toneladas de celulose *fluff* por hora, e que deve operar 24 horas por dia, ter-se-á uma produção mensal de 45000 toneladas. A partir desses valores, torna-se possível estimar a receita bruta mensal, um valor de R$35.087.850,00. O valor total das despesas dessa empresa no período de um mês pode ser obtido a partir dos custos fixos e variáveis, já calculados anteriormente. A Tabela 3 explicita esses valores.

Tabela 3. *Custos fixos e variáveis*

Custos fixos	R$ 475.644,00
Custos variáveis	R$ 27.363.513,42
Total	**R$ 27.839.157,42**

Referência: Autoria própria

A partir dos valores obtidos para o rendimento mensal da empresa, e dos custos fixos e variáveis para esse mesmo período, faz-se o cálculo da receita líquida, que é dada pela diferença entre a receita bruta e os custos fixos e variáveis, dessa forma essa será de R$7.248.692,58. Para o período de um ano, a renda líquida anual é estimada em R$86.984.311,00.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

***Retorno do Investimento*:** Uma vez que o investimento estimado foi de R$31.082.978,14 para instalação da fábrica, e que a receita líquida anual é de R$86.984.311,00, espera-se um retorno sobre o investimento após 4 meses de operação.

Plano Produtivo: Com base em pesquisas nas empresas do segmento de celulose, foi possível estabelecer a produção diária de 1500 toneladas, ou seja, uma produção mensal de aproximadamente 45 mil toneladas de celulose *fluff* e anual de 540 mil toneladas. Estabeleceu-se também o período produtivo, que será dado de forma contínua durante 24h por dia, com paradas programadas para manutenção de cinco a dez dias anualmente (DEPEC, 2017).

Balanço Energético: No estudo da implantação de uma indústria de quaisquer seguimentos, o balanço energético tem por objetivo principal analisar o rendimento das caldeiras e quantificar suas perdas no sistema, fato este intimamente relacionado à indicação do quanto o rendimento de um equipamento se aproxime do ideal. Logo sugere-se que tal equipamento trabalhe com alto rendimento, mantendo sua eficiência ao máximo, ou seja, existe a pretensão de que haja a eficiência energética do processo. Dentro desse contexto, a fase de concepção e desenho do sistema de distribuição de vapor merece especial atenção no que tange a estreita relação entre a demanda e a perda de carga admissível. Muitas vezes, alterar ou otimizar uma operação já existente, com vistas à recuperação de resíduos de um mesmo setor ou processo, vem a ser uma alternativa de sucesso e grande interesse para as indústrias.

De modo geral, a eficiência energética de um sistema é a indicação do quanto um equipamento real aproxima-se de seu comportamento ideal, no qual não existem perdas. A busca para minimizar as perdas é constante, pois elas significam maiores custos. Com isso, nos mais diversos setores industriais, procura-se sempre trabalhar com equipamentos de alto rendimento mantendo a eficiência em um nível máximo (ELETROBRÁS, 2005).

Na indústria de celulose, por exemplo, uma alternativa que já vem sendo utilizada é a substituição dos combustíveis fósseis comumente utilizados nas caldeiras pelos resíduos gerados no processo. Rocha (2009) cita que além da combustão ou queima direta da madeira e resíduos (licor negro) para a geração de energia térmica e elétrica, outras rotas tecnológicas podem ser empregadas com a finalidade de elevar eficiência energética ou gerar produtos de maior valor agregado.

Caldeira de Biomassa: A caldeira de biomassa é responsável, juntamente com a caldeira de recuperação, por suprir a demanda de vapor da planta de celulose. São três as principais fontes de biomassa a serem queimadas na caldeira de biomassa no processo produtivo da celulose: o picador de cavacos e a depuração. Do balanço de massa, considerando que cerca de 25% da biomassa inicial é destinada à caldeira de biomassa, temos que a soma das massas totais, as massas de água e as massas secas dessas correntes são dadas pelas Equações 1, 2 e 3:

$$M_{total} = 3.605.700\,\frac{kg}{dia} \times 0{,}25 = \frac{901.425kg}{dia} \quad \text{(Eq.1)}$$

$$M_{água} = 721.700\,\frac{kg}{dia} \times 0{,}25 = \frac{180.425kg}{dia} \quad \text{(Eq.2)}$$

$$M_{seca} = 2.884.000\,\frac{kg}{dia} \times 0{,}25 = \frac{721.000kg}{dia} \quad \text{(Eq.3)}$$

A quantidade de calor liberada pela combustão da matéria orgânica presente na biomassa pode ser calculada pela Equação 4.

$$Q = M_{biomassa} x PCI \quad \text{(Eq.4)}$$

Considerando o PCI da biomassa igual ao PCI de cavacos de eucalipto (PCI = 4.300kcal/kg), e considerando um rendimento de 70%, calcula-se através da Equação 5.

$$Q = 721.000\,\frac{kg}{dia} \times 4300\,\frac{kcal}{kg} \times 0.7 \times \left|0{,}00116222\,\frac{kWh}{kcal}\right| = 2.522.261{,}47\,\frac{kWh}{dia} \quad \text{(Eq.5)}$$

A massa de vapor gerado com esse calor é calculada pela Equação 6:

$$Q_{útil} = M_{vapor}\,(H - h) \times n \quad \text{(Eq.6)}$$

onde H é a entalpia do vapor na corrente de saída; h, a entalpia do liquido na corrente de entrada; n, a eficiência do processo; e M_{vapor}, a massa de vapor fornecida pela caldeira.

Para uma corrente de água saturada a temperatura ambiente (aproximadamente 25°C)

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

tem-se h = 104,89 kJ/kg = 0,029 kWh/kg. Para uma corrente de vapor superaquecido a 480°C e 80 bar tem-se H = 3.340 kJ/kg = 0,93 kWh/kg, logo, segundo a Equação 7, a massa de vapor fornecida é:

$$Mvapor = \frac{\frac{2.522.261,47\ kg}{dia}}{0.93-0.029} = 2.799.402,29\ \frac{kg}{dia}$$ (Eq.7)

Para a primeira turbina, a quantidade de energia que pode ser gerada por esse vapor é dada também pela Equação 6. Desta forma, para uma corrente de saturado a 200°C tem-se h= 2.793,2 kJ/kg = 0,78 kWh/kg e, considerando-se uma eficiência de 80%, a Equação 8 fornece o valor do consumo diário de energia (W1):

$$W1 = \frac{2.799.402,29\frac{kg}{dia}}{(0.93-0.78)} \times 0.8 = \frac{335.928,3\ kWh}{dia}$$ (Eq.8)

Uma segunda turbina é acionada pelo vapor gerado na caldeira de recuperação. O vapor entra superaquecido a 500°C e 10000kPa, e sai superaquecido a 200°C e 800kPa. Sabe-se que cerca de 7 a 8% da biomassa inicial é destinada para caldeira de recuperação, dessa forma tem-se que:

$$M_{total} = 3.605.700\frac{kg}{dia} \times 0.07 = 252.399\ kg/dia$$ (Eq.9)

$$M_{água} = 721.700\frac{kg}{dia} \times 0.07 = 50.519\ kg/dia$$ (Eq.10)

$$M_{seca} = 2.884.000\frac{kg}{dia} \times 0.07 = 201.880\ kg/dia$$ (Eq.11)

Considerando novamente o PCI da biomassa igual ao PCI de cavacos de eucalipto e um rendimento entre 75% e 80%, calcula-se, conforme a Equação 12 o consumo diário de energia (Q) e, conforme a Equação 13 a massa de vapor.

$$Q = 201.800\ \frac{kg}{dia} \times 4300\frac{kcal}{kg} \times 0.795 \times \left|\frac{0,00116222\ kWh}{1\ kcal}\right| = 802028,76\ \frac{kWh}{dia}$$ (Eq.12)

$$Mvapor = \frac{802.028,76\ kg/dia}{0.93-0.78} = 5.346.858,4 kg/dia$$ (Eq.13)

Para a corrente de entrada tem-se H = 3.360,94 kJ/kg = 0,93 kWh/kg e para a corrente de saída, h = 2893,3 kJ/kg = 0,8 kWh/kg. Para uma eficiência de 80%, calcula-se pela Equação 14 o consumo diário de energia (W2).

$$W2 = 5.346.858,4\frac{kg}{dia} \times (0.98 - 0.8)\frac{kWh}{kg} \times 0.8 = 556.073,3\ kWh/dia$$ (Eq.14)

Do relatório da Associação Brasileira Tecnológica de Celulose e Papel (2008), uma fábrica de celulose no Brasil consome cerca de 700 kWh/tonelada de celulose. Para uma produção diária de 1500 toneladas de celulose, tem-se, consoante a Equação 15:

$$Consumo = 700\frac{kWh}{t\ de\ celulose} * 1500\ t\ de\ celulose = 1.050.000\frac{kWh}{dia}$$ (Eq.15)

A geração de energia elétrica a partir de biomassa e licor negro é dada pela Equação 16 e a porcentagem de energia elétrica proveniente da queima de biomassa e licor negro, pela Equação 17.

$$Energia\ gerada = \frac{335.928,3\ kWh}{dia} + \frac{556.073,3\ kWh}{dia} = \frac{892.001,6kWh}{dia}$$ (Eq.16)

$$\frac{892.001,6\ kWh/dia}{1.050.000\ kWh/dia} * 100 = 84,9\%$$ (Eq.17)

Dessa forma, a queima de biomassa e licor negro é responsável por quase 85% da energia elétrica necessária para operação da indústria, e o restante deve ser proveniente da adição de gás natural à caldeira de biomassa, prática já efetuada pelas indústrias do setor.

CONCLUSÕES

Dado o fato de a produção de celulose *fluff* de fibra curta ser uma tecnologia ainda nova, tanto no Brasil como em outros países, viu-se que a disponibilidade da matéria prima, assim como toda a logística do processo produtivo viabilizam a implementação de uma indústria nesse ramo na cidade de Teófilo Otoni. Nesse contexto, é possível verificar ainda que, no Brasil, as indústrias que produzem apenas celulose, destinam a maior parte da sua produção (67%) para o mercado externo (DEPEC, 2017). Assim sendo, a indústria em questão além de atender o mercado interno, deve buscar exportar grande

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

parte da sua produção, atendendo seu público-alvo, os produtores dos segmentos de fraldas e absorventes, principalmente.

Considerando uma produção de 62,5 ton/h de celulose *fuff*, com a fábrica em operação de 24h diariamente foi possível mensurar a proporção de todos os demais componentes necessários para efetivação da produção. Estabeleceu-se também que a alvura do produto estará compreendida entre 85 à 95% e este apresentará 90% de fibras e 10% de água na sua composição final.

A partir do estudo da viabilidade econômica, considerando todos os gastos mensais, custos de investimentos e lucros, pôde-se verificar que se a empresa fosse implantada, essa teria um retorno dos seus investimentos após, aproximadamente, 4 meses. Portanto, levando em consideração a proposta do desenvolvimento desse projeto, conclui-se que o mesmo foi realizado com sucesso.

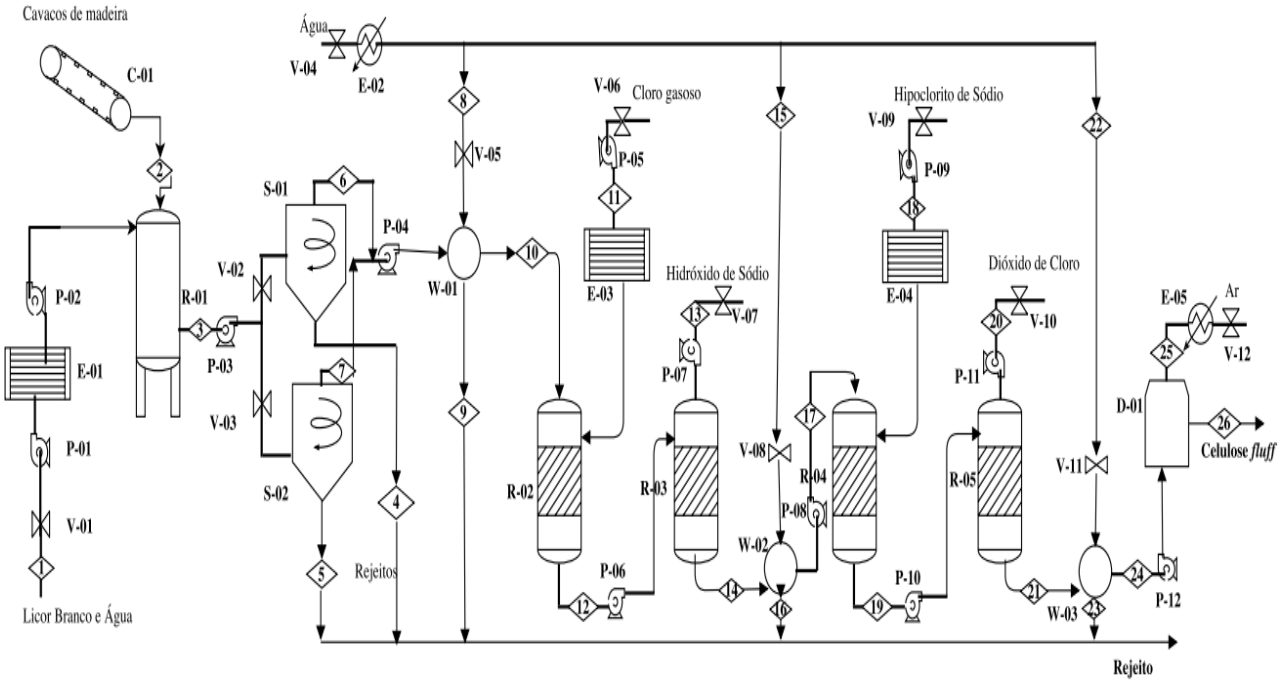
REFERÊNCIAS

1. Associação Brasileira de Celulose e Papel – BRACELPA. Disponível em: <www.bracelpa.org.br>. Acesso em 9 jul. 2016.
2. Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social – BNDES. 2006. Panorama de mercado: celulose. 2014. Disponível em:<http://www.bndes.gov.br/bibliotecadigital>. Acesso em 5 jul. 2016.
3. Browning, B. L. The chemistry of wood. New York, Interscience, 1963.
4. Canson, Dados sobre história do papel. Disponível em: <http://www.canson.com.br/historia/historia_papel.asp>. Acesso em 6 jul. 2016.
5. Celulose Online. Introdução ao Processo de Obtenção de Celulose. 2015 Disponível em: <http://www.crq4.org.br/sms/files/file/dc417.pdf>. Acesso em 5 jul. 2016.
6. Coelho, M. R. F.; Coelho, M. H. Panorama da indústria de celulose e papel no Brasil: 2001 a 2011. Floresta, Curitiba, v. 43, n. 3, p. 463 - 474, jul./set. 2013.
7. DEPEC - Departamento de Pesquisa e Estudos Econômicos. Papel e Celulose. Bradesco, novembro de 2017.
8. Hilgemberg, E. M.; Bacha, C. J. C. A evolução da indústria brasileira de celulose e sua atuação no mercado mundial. Revista Análise Econômica, Rio Grande do Sul, Ano 19, n. 36. 2001.
9. ELETROBRÁS - Centrais Elétricas Brasileiras. Eficiência energética no uso de vapor. Rio de Janeiro. Eletrobrás, 2005.
10. Fluxo Consultoria. Etapas do estudo de Viabilidade Econômica. 2015. Disponível em: <http://fluxoconsultoria.poli.ufrj.br/blog/gestao-empresarial/estudo-viabilidade-economica-financeira>. Acesso em 07 ago. 2017.
11. Hoffelder, J. Pellets de bagaço de cana-de-açúcar na matriz energética. 2011. 51 f. TCC (Graduação em Engenharia Química) - Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.
12. Juvenal, T.; Mattos, R. O setor florestal no Brasil e a importância do reflorestamento. BNDES Setorial, Rio de Janeiro. 2002.
13. Mattos, R. L. G; Juvenal, T. L.: O setor de celulose e papel. 2002. Disponível em:< http://www.bndes.gov.br/wps/portal/site/home>. Acesso em 03 set. 2016.
14. Montebello, A. E. S.; Bacha, C. J. C. Impactos da reestruturação do setor de celulose e papel no Brasil. Est. Econ., São Paulo, vol.43, n.1, p.109-137, jan./mar. 2013
15. SEDE, Secretaria de Estado de Desenvolvimento econômico. 2010. Disponível em: <http://www.desenvolvimento.mg.gov.br/pt/>. Acesso em 20 mai. 2016.
16. SEBRAE-DF. Feira do empreendedor: Bons ventos para o seu negócio. 2009. Disponível em:<http://intranet.df.sebrae.com.br/download/OportunidadesFeiraEmpreendedor2009/08ClinicadeEst%C3%A9tica2009.pdf>; Acesso em 7 ago. 2017.
17. SEBRAE. O que são custos fixos e custos variáveis. 2016. Disponível em: <https://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/ufs/ap/artigos/o-que-sao-custos-fixos-e-custos-variaveis,69cb1e2c6182c410VgnVCM1000003b74010aRCRD>; Acesso em: 7 ago. 2017.
18. Silva, J. C. G. L.; Almeida, A. N.; Hildebrand, E.; Sawinski Júnior, J.;

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Lacowicz, P. G. Estratégias de posicionamento no mercado internacional das empresas brasileiras de papel e celulose. Floresta, Curitiba, v. 40, n. 4, p. 801-812, out./dez. 2010.
19. Soto, B. F. A. Da indústria do papel ao complexo florestal no Brasil: o caminho do corporativismo tradicional ao neocorporativismo. Tese (Doutorado) UNICAMP. Campinas, 1992.
20. Rocha, J. D. Biorrefinarias integrarão novas rotas para aproveitamento integral da biomassa florestal. Embrapa Agroenergia, 2009.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil



Referência: Autoria Própria

Figura 1. *Fluxograma representativo do ciclo de produção da celulose fluff*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

PRESENÇA DE *Rhodotorula* EM AMBIENTE HOSPITALAR: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

PRESENCE OF *Rhodotorula* IN HOSPITAL ENVIRONMENT: A SYSTEMATIC REVIEW

ANDRADE JÚNIOR, Francisco Patricio de[1*]; CRUZ, José Henrique de Araújo[1]; OLIVEIRA FILHO, Abrahão Alves de[1];

[1]Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, Departamento de Farmácia, Olho D'água da Bica S/N, cep 58175-000, Cuité-PB, Brasil.
(fone: +55 084 8135-7242)

[2]Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Departamento de Odontologia, Avenida Universitária S/N, cep 58708-110, Patos-PB, Brasil.
(fone: +55 083 9625-0125)

[3] Prof. Dr. da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Departamento de Odontologia, Avenida Universitária S/N, cep 58708-110, Patos-PB, Brasil.
(fonte: +55 083 3511-3000)

** Autor correspondente*
e-mail: juniorfarmacia.ufcg@outlook.com

Received 21 April 2018; received in revised form 10 June 2018; accepted 13 June 2018

RESUMO

Fungos do gênero *Rhodotorula* possuem a capacidade de causar o desenvolvimento de infecções, sobretudo, em pacientes imunodeprimidos podendo levá-los a óbito. O presente estudo teve como objetivo fazer uma revisão bibliográfica do tipo sistemática acerca da presença de *Rhodotorula* sp. em ambiente hospitalar, enfocando mãos de profissionais da saúde, superfícies de objetos presentes em hospitais e o ar. O levantamento bibliográfico ocorreu nas bases de dados Scielo, Lilacs, PubMed, Science Direct e Periódicos Capes, de artigos publicados entre os anos 2000 à 2017. Na revisão de literatura houve a recuperação de 3164 publicações, das quais 56 tiveram seus textos avaliados por completo e somente 7 foram selecionadas para compor os resultados. A prevalência de *Rhodotorula* sp. nos diferentes estudos variou entre 3,3% à 23,7%, onde ao total observou-se 1170 amostras contaminadas por fungos, das quais o gênero *Rhodotorula* foi encontrado em 71 amostras (6,1%), em que 13% (n=9) foram detectados em superfícies de objetos e equipamentos, 14% (n=10) foram encontrados em mãos de profissionais da saúde e 73% (n=52) no ar. Deste modo, é necessário que medidas mais rígidas de limpeza sejam adotadas pelos hospitais a fim de diminuir a presença desses microrganismos e impedir o desenvolvimento de infecções.

Palavras-chave: *Micologia, Leveduras, Gênero Rhodotorula, Epidemiologia, Saúde Pública.*

ABSTRACT

Fungi of the genus *Rhodotorula* have the capacity to cause the development of infections, especially in immunosuppressed patients and can lead to death. This study aimed to make a systematic review of the *Rhodotorula* sp. in a hospital environment, focusing hands of health professionals, surfaces of objects present in hospitals and the air. The bibliographic survey was carried out in the databases Scielo, Lilacs, PubMed, Science Direct and Periodical Capes, of articles published between the years 2000 to 2017. In the literature review, 3164 publications were retrieved, of which 56 had their texts fully evaluated and only 7 were selected to compose the results. The prevalence of *Rhodotorula* sp. in the different studies ranged from 3.3% to 23.7%, where 1170 samples were contaminated by fungi, of which the genus *Rhodotorula* was found in 71 samples (6.1%), where 13% = 9) were detected on surfaces of objects and equipment, 14% (n = 10) were found in the hands of health professionals and 73% (n = 52) in the air. In this way, it is necessary that more strict measures of cleaning are adopted by the hospitals in order to diminish the presence of these microorganisms and to prevent the

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

development of infections.

Keywords: *Mycology, Yeasts, Rhodotorula genus, Epidemiology, Public Health.*

INTRODUÇÃO

Os fungos são microrganismos ubiquitários e eucariotos que contêm um núcleo bem definido, mitocôndria, complexo de Golgi, retículo endoplasmático e podem existir em forma unicelular (leveduras) que se replica assexuadamente ou na forma pluricelular (fungos filamentosos) podendo se replicar sexuadamente e assexuadamente (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2014).

Estes eucariontes vêm ganhando importância no decorrer dos últimos anos devido aos fenômenos de resistência, a sua capacidade de produzir micotoxinas que contribuem para a instabilidade da saúde huamana e principalmente, devido a infecções nosocomais, que ocupam o terceiro ou quarto lugar como agentes etiológicos responsáveis (PEMÁN; ZARAGOZA; SALAVERT; 2013; ANDRADE JÚNIOR *et al*., 2018).

Esta situação representa um risco à saúde pública, sendo necessário que haja a investigação de quais espécies ou gêneros fúngicos possam ser encontrados em ambientes internos de áreas críticas hospitalares, em mãos de profissionais da saúde e em superfícies de objetos presentes em hospitais (RUIZ; PEREIRA, 2016).

Dentre os gêneros fúngicos de interesse hospitalar, é possível destacar o gênero *Rhodotorula* que se caracteriza por ser uma levedura comensal da microbiota normal de seres humanos (pele, unhas e mucosas). Compostos por células de brotamento multilateral estes fungos são capazes de produzir pigmentos carotenoides, dando as suas colônias a coloração que varia entre rosa e vermelho possuindo como principais espécies *R. glutinis*, *R. mucilaginosa* e *R. minuta* (Figura 1) (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2014; ALMEIDA, 2005).



Figura 1*. Características macroscópicas de Rhodotorula sp.*
Fonte: ALMEIDA, 2005

Este gênero fúngico é capaz de causar infecções oportunistas, tratando-se, portanto, de infecções que se desenvolvem em pacientes que possuem a função fagocitária deprimida, seja devido disfunções metabólicas, doenças crônicas, terapia imunodepressora ou esteroide (SILVA *et al*., 2014), podendo ocasionar em graves enfermidades, como meningite e endocardite (LOSS, 2011).

Deste modo, levando em consideração a importância que fungos do gênero *Rhodotorula* podem apresentar quanto agentes etiológicos em pacientes imunocomprometidos, o presente estudo teve como objetivo fazer uma revisão bibliográfica do tipo sistemática acerca da presença de *Rhodotorula* sp. em ambiente hospitalar seja por meio de mãos de profissionais da saúde, superfícies de objetos presentes em hospitais ou advindos do ar.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Delineamento do Estudo

O presente estudo trata-se de uma revisão bibliográfica do tipo sistemática, uma vez que, houve a utilização de dados advindos da literatura utilizando rigor metodológico de modo sistemático permitindo a reprodutibilidade de

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

busca (ACTA PAULISTA DE ENFERMAGEM, 2007).

2.2 Critérios de Inclusão e Exclusão

Foram incluídos neste estudo artigos que, em seu conteúdo, trouxessem informações quantitativas acerca da presença de *Rhodotorula* sp. em mãos de profissionais de saúde, superfície de objetos e no próprio ambiente hospitalar (ar), de artigos publicados entre os anos 2000 à 2017 que se apresentassem em língua inglesa, portuguesa e espanhola. Trabalhos em que não foram constatados a presença de *Rhodotorula* sp. ou que foram publicados fora do tempo cronológico delimitado, foram excluídos do estudo.

2.3 Fontes de Informação

Os artigos foram recuperados a partir das bases de dados**:** *Lilacs* (Centro América Latina e Caribe em Ciências da Saúde), *Scielo* (Scientific Eletronic Library Online), *Science Direct*, *PubMed* e Periódicos Capes. O levatamento de dados ocorreu entre novembro de 2017 à janeiro de 2018.

2.4 Estratégia de Busca

A estratégia de busca utilizada para pesquisa nas bases de dados se deu pela utilização dos seguintes descritores e palavras-chave: ("*Rhodotorula*" AND "Hospital") OR ("*Rhodotorula*" AND "Nosocomial") OR ("*Rhodotorula*" AND "hospital environment").

2.5 Extração dos Dados

Foram extraídas as seguintes variáveis: autor(es), ano de publicação da pesquisa, origem da amostra coletada (superfície de objetos e equipamentos presentes no hospital, mãos de profissionais da saúde ou o próprio ambiente), quantidade de amostras positivas para fungos e quantidade de amostras especificamente positivas para *Rhodotorula.*

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na revisão de literatura houve a recuperação de 3164 publicações, das quais 56 tiveram seus textos avaliados por completo. Por fim, somente 7 artigos foram incluídos para compor os resultados (Figura 1).

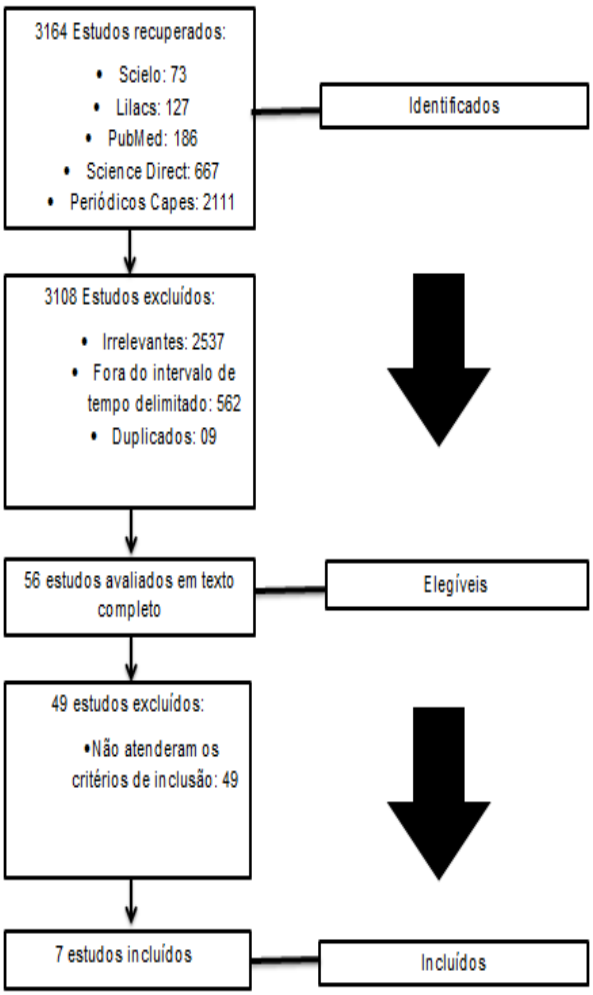


Figura 2*. Processo de busca, seleção e inclusão de artigos.*

A presença de *Rhodotorula* em hospitais pode ser constatada em estudos publicados entre os anos 2000 à 2015, como pode ser observado na tabela 1.

A prevalência de *Rhodotorula* sp. nos diferentes estudos variou entre 3,3% à 23,7%, onde ao total observou-se 1170 amostras contaminadas por fungos, das quais o gênero *Rhodotorula* foi encontrado em 71 amostras (6,1%).

A constatação de *Rhodotorula* em 6,1% das amostras é um dado importante, uma vez que, este gênero fúngico tem a capacidade de agir como oportunista em pacientes imunocomprometidos (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2014; MARTÍNEZ *et al*., 2013).

Assim, é preciso que os hospitais utilizem medidas para evitar a presença não somente de fungos patogênicos, mas também de oportunistas, para isso é necessário que se conheça quais são as fontes de contaminação ou

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

onde estes fungos possam ser encontrados dentro do ambiente hospitalar.

Abaixo é possível constatar o percentual de *Rhodotorula* encontrada no ar, em mãos e objetivos/equipamentos presentes em ambiente hospitalar (Figura 3).

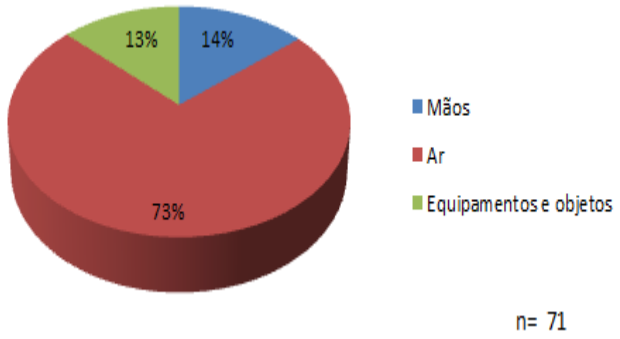


***Figura 3**. Detecção de Rhodotorula no ar de ambientes hospitalares, mãos de profissionais da saúde e em objetos e equipamentos de uso hospitalar.*

Nos estudos de García e Valles (2014), Carrilo-Dover *et al*., (2009) e Passos *et al*., (2000) é possível observar a presença de *Rhodotorula* sp. em mãos de profissionais da saúde, equivalente a 14% das amostras contaminadas.

As mãos são as principais ferramentas de trabalho utilizadas por profissionais da saúde, contudo constituem a principal via de transmissão de microrganismos ao paciente, uma vez que, podem ser verdadeiros reservatórios de patógenos (SANTOS; GONÇALVES, 2009). Mesmo tratando-se de um fungo não patogênico, a presença de espécies de *Rhodotorula* sp. nas mãos, pode ser considerada como um forte indicador de possível colonização de outras leveduras, já que estes órgãos estão associados a grandes números de infecções hospitalares (GARCÍA; VALLES, 2014; XISTO *et al*., 2000).

Além disso, as mãos devem ser bem higienizadas, pois podem desempenhar o papel de fonte de transmissão de microrganismos a objetos utilizados em procedimentos invasivos e/ou promover a transmissão de infecções veiculadas pelo contato direto ao paciente (BRASIL, 2007). A presença de microrganismos em mãos, pode também está relacionada ao tipo de antisséptico utilizado para higienização destes órgãos. Em um estudo realizado em profissionais de saúde, observou-se que higienização com solução alcoólica é mais eficaz quando comparada a técnica de escovação com digliconato de clorexidina 2% (MENEZES *et al*., 2016), enquanto que em um estudo realizado com diversos antissépticos, observou-se que a assepsia das mãos com álcool é mais eficaz do que a lavagem prévia utilizando água e sabão. Contudo o uso do álcool como desinfetante ainda é pouco aceito no Brasil (VOLKART *et al*., 2017), podendo porém ser mais uma medida implementada para assegurar a limpeza das mãos antes que os profissionais de saúde entrem em contato com o paciente.

Nos estudos de García e Valles (2014) e Gonçalves *et al*., (2015) foi observada a presença de *Rhodotorula* em superfícies de objetos e equipamentos, correspondendo a 13% das amostras contaminadas.

Outros estudos também evidenciam a presença de fungos em artigos médico-hospitalares, objetos e equipamentos. Em um hospital de Araraquara-SP, 91 amostras foram colhidas do mobiliário em que 44% foram positivas para leveduras, tendo a *Candida* como gênero predominante (70¨%) (MARTINS-DINIZ *et al*., 2005), enquanto que no município de Francisco Beltrão-PR, ao analisar maçanetas e cabeceiras de cama de uma unidade hospitalar detectou-se mais abundantemente a presença de colônias fúngicas do gênero *Cladosporium* spp, *Fusarium* spp e *Penicillium* spp. (FLORES; ONOFRE, 2010). Em um hospital no interior de São Paulo, realizaram uma investigação microbiológica em leitos hospitalares, onde observou-se que de 520 placas, o crescimento de fungos foi evidenciado em 42,1% destas amostras, entretanto as espécies e/ou gêneros envolvidos não foram identificados (ANDRADE; ANGERAMI; PADOVANI, 2000). Em Pouso Alegre-MG, verificou-se em 30 amostras a presença de 160 colônicas fúngicas, sendo que destas 40% correspondiam a fungos do gênero *Penicillium* (MELO *et al*., 2009).

Este dado é alarmante, uma vez que, a utilização de sondas, cateteres ou outros materiais médico-hospitalares invasivos podem contribuir para a contaminação de pacientes imunocomprometidos (MARTÍNEZ *et al*., 2013), uma vez que, a inserção destes instrumentos destroem a epiderme permitindo a penetração e o possível desenvolvimento de microrganismos, causando assim, o desenvolvimento de infecções (ANDRADE JÚNIOR *et al*., 2017). Ademais, estudos demonstram que cepas de *Rhodotorula*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

sp. em equipamentos médicos e mãos de profissionais da saúde têm se mostrado resistentes aos triazólicos e equinocandinas (GARCÍA; VALLES, 2014; LUNARDI *et al*., 2006) dificultando cada vez mais o tratamento daqueles que forem acometidos, trazendo, consequentemente, mais gastos aos hospitais que terão de manter o paciente hospitalizado por mais tempo e utilizando antifúngicos cada vez mais potentes e dispendiosos.

A correta higienização de objetos e equipamentos hospitalares implicam na eleição certa de um saneante que seja eficiente contra a maioria dos microrganismos de interesse médico.

O hipoclorito de sódio e sabão neutro são amplamente utilizados para a limpeza de superfícies e alguns equipamentos, entretanto é evidenciado que a forma de diluição desses saneantes podem contribuir para imperfeita desinfecção, enquanto que a utilização do óxido de etileno (ETO) tem se apresentado como um interessante agente, uma vez que possui atividade esterilizante. Quando o ETO entra em contato com equipamentos ou materiais médico-hospitalares, este se liga irreversivelmente as bases nitrogenadas dos microrganismos que neles estejam presentes, impedindo portanto a duplicação do material genético, impossibilitando assim o desenvolvimento de outras células. Outras opções que podem ser considerados para limpeza desses fômites e que são amplamente discutidas na literatura é o glutaraldeído, considerado um desinfetante de alto nível por matar uma ampla gama de microrganismos, entretanto devido falhas durante o reprocessamento de artigos médico-hospitalares, que não atingiam o tempo mínimo de imersão, houve o aparecimento de cepas tolerantes, sendo portanto proibida a sua utilização para alguns artigos invasivos, enquanto que no caso do ácido peracético é utilizado para a esterilização e desinfecção de alto nível impedindo a sobrevivência e reprodução de microrganismos em artigos médico-hospitalares de uso crítico e semicrítico (VENCESLAU; MARTINS; OLIVEIRA, 2012; SILVA *et al*., 2017; BARBOSA; SARTORI, 2017).

A presença de espécies do gênero *Rhodotorula* no ar foi responsável por 73% das amostras contaminadas, o que pode ser atribuído a instalação de ambientes com climas artificiais dando a esses microrganismos um sítio adequado a proliferação (SANTANA; FORTUNA, 2012).

Outros hospitais também evidenciaram a presença de fungos no ar. Em um hospital localizado na cidade de Ariquemes-RO, foi visto que de 50 amostras 20% destas estavam contaminadas *Fusarium* spp., 14% por *Curvularia* sp e 12% com *Cladosporium* sp. (PEREIRA *et al*., 2014). Enquanto que no município de Rio Grande-RS, foram analisadas 104 amostras de ar, sendo que os fungos mais prevalentes encontrados foram *Cladosporium* spp (75%), *Aspergillus* spp (71,15%) e *Alternaria* spp (53,85%) (LOBATO; VARGAS; SILVEIRA, 2009).

Outros fatores causais relacionados a presença de fungos no ar são: a falta de controle da ventilação, a falta de limpeza e manutenção de ar condicionado, assim como, a entrada de pessoas, materiais, poeira, janelas abertas e a forma de limpeza ineficaz (PEREIRA *et al*., 2014; CENTENO; MACHADO, 2004).

Logo, esse excesso de contaminação pelo ar, pode propiciar a instalação de outros fungos anemófilos, a exemplo de *Candida*, *Aspergillus* e *Penicillium* (GONÇALVES *et al*., 2017) podendo ocasionar, inclusive, em complicações ainda maiores para os pacientes imunocomprometidos e possivelmente para pacientes imunocompetentes uma vez que tratam-se de fungos altamente patogênicos.

Mesmo dando-se menor importância a *Rhodotorula* sp., por ser considerado um fungo oportunista, sabe-se que a infecção causada por este gênero tem sido associada a altas taxas de mortalidade, correspondendo a uma cifra superior a 15% (ROSA, 2013). Em um estudo de revisão, observou-se 128 casos de infecções causadas por *Rhodotorula*, onde 87% dos casos se deu em pacientes imunocomprometidos; a fugemia esteve presente em 79% dos casos, seguidos de infecções oculares e peritonites, com 7% e 5% dos casos respectivamente, enquanto que a mortalidade esteve presente em 12,6% dos casos (TUON; COSTA, 2008).

Contudo, uma limpeza correta no ambiente hospitalar, é considerada a melhor alternativa para o controle da contaminação fúngica, uma vez que, quanto maior a limpeza, maior será a segurança do ambiente hospitalar (HONORATO, 2009).

É importante ressaltar que este é o primeiro estudo de revisão que trata sobre a contaminação de *Rhodotorula* em ambiente hospitalar, podendo portanto servir como foco centralizador de outras pesquisas que envolvam

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

esta temática e também como um alerta para que os gestores de saúde possam criar políticas públicas que permitam contribuir para a diminuição da contaminação fúngica em ambiente hospitalar, seja através da capacitação constante dos profissionais, de medidas mais restritivas acerca da livre circulação de pessoas em ambientes hospitalares, utilização de filtros HEPA e a descontaminação correta de objetos

CONCLUSÃO

A contaminação por fungos do gênero *Rhodotorula* foi considerada alta (6,1%) em amostras advindas de mãos de profissionais da saúde, superfícies de objetos hospitalares e o próprio ambiente hospitalar tratando-se de um dado preocupante. Entretanto, algumas medidas preventivas podem ser tomadas para reduzir a presença de fungos em hospitais, como a lavagem correta das mãos, o controle da entrada de pessoas e do ar e a higienização correta de superfícies.

Mais estudos precisam ser realizados a nível nacional e internacional, para que se conheça o perfil microbiológico dos mais diversos hospitais permitindo, assim, a construção de medidas efetivas que, por sua vez, contribuirão para a quebra da cadeia de contaminação.

REFERÊNCIAS

1. Acta paulista de enfermagem. *Acta Paul Enfer*., **2007**, *20*.
2. Almeida, G. M. D. Rhodotorula spp. isoladas de hemocultura no Hospital das clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo: características clínicas e microbiológicas. **2005**. 139 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
3. Andrade Júnior, F. P., Alves, T. W. B., Romano, T. K. F., Medeiros, F. D. *Periódico Tchê Química*, **2018**, *15*, 321.
4. Andrade Júnior, F. P., Alves, T. W. B., Lima, B. T. M., Dantas, B. B. Atividade antiestafilocócica da *Anacardium occidentale:* uma revisão. In: One, G. M. C. (Org.). Campina Grande: Instituto Bioeducação, **2017**, p.299-314.
5. Andrade, D., Angerami, E. L. S., Padovani, C. R. *Revista de Saúde Pública*, **2000**, *34*, 169.
6. Barbosa, L. S., Sartori, M. R. K. *Cadernos da Escola de Saúde*, **2017**, 1.
7. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Higienização das mãos em serviços de saúde. Brasília: Anvisa, **2007**. 52 p.
8. Carrillo-Dover, P., Álvarez-Veja, C., Salas-Campos, I., Mora-Brenes, N.. *Acta Médica Costarricense*, **2009**, *51*, 171.
9. Centeno, S.; Machado, S. Investigación Clínica, **2004**, *4*, 144.
10. Cordeiro, R. A., Brilhante, R. S. N., Pantoja, L. D. M., Moreira Filho, R. E., Vieira, P. R. N., Rocha, M. F. G., Monteiro, A. J., Sidrim, J. J. C. *Braz J Infect Dis*., **2010**, *14*, 34.
11. Flores, L. H., Onofre, S. B. *Revista de Saúde e Biologia,* **2010**, *5*, 26.
12. García, Y. S., Valles, R. H. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, **2014**, *34*, 32.
13. Gonçalves, C. L., Mota, F. V., Ferreira, G. F., Mendes, J. F., Pereira, E. C., Freitas, C. H., Vieira, J. N., Villarreal, J. P., Nascente, P. S. Brazilian Journal of Biology, **2017**.
14. Gonçalves, C. L., Mota, F. V., Mendes, J. F., Ferreira, G. F., Vieira, N. J., Pereira, E., Nascente, P. S. *Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção*, **2015**, *5*, 112.
15. Honorato, G. M. *Revista Eletrônica de Biologia*, **2009**, *2*, 31.
16. Lobato, R. C.; Vargas, V. S.; Silveira, E. S. *Revista da Faculdade de Ciências Médicas*, **2009**, *11*, 28.
17. Loss, S. H., Antonio, A. C. P., Roerhrig, C., Castro, P. S., Maccari, J. G. *Rev Bras Ter Intensiva*, **2011**, *23*, 509.
18. Lunardi, L. W., Aquino, V. R., Zimerman, R. A., Goldani, L. Z. *Clin Infect Dis*, **2006**, *43*, 63.
19. Martínez, I. R., Morales, L. P., García, M. M., Castillo, J. E. B. *MediSur*, **2013**, *11*, 545.
20. Melo, L. L. S., Lima, A. M. C.,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Damasceno, C. A. V., Vieira, A. L. P. *Revista Paulista Pediátrica*, **2009**, *27*, 308.

21. Menezes, R. M., Cardoso, V., Hoehr, C. F.; Bulle, D.; Burgos, M. S.; Benitez, L. B.; Renner, J. D. P. *Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção*, **2016**, 6.
22. Murray, P.R.; Rosenthal, K.S.; Pfaller, M.A. Microbiologia Médica. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, **2014**.
23. Pantoja, L. D. M., Couto, M. S., Leitão Júnior, N. P., Sousa, B. L., Mourão, C. I., Paixão, G. C. Rev Bras Promoç Saúde, **2012**, *25*, 196.
24. Passos, X. S., Souza, L. H., Costa, M., Costa, C. R., Fernandes, O. F. L., Silva, M. R. R. *Revista de Patologia Tropical*, **2000**, *29*, 203.
25. Pemán, J., Zaragoza, R., Salaver, M. *Rev Esp Quimioter*., **2013**, *26*, 311.
26. Pereira, J. G., Zan, R. A., Jardin, C. F., Meneguetti, D. U. O. *Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção*, **2014**, *4*, 22.
27. Pereira, J. G., Zan, R. A., Jardin, C. F., Meneguetti, D. U. O. *Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção*.
28. ROSA, M. A. L. Monitorização da presença de fungos com interesse clínico em ambiente hospitalar: zonas de banho como potenciais focos de contaminação fúngica. **2013**. 99 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia do Ambiente) – Universidade dos Açores, Angra do Heroísmo, 2013.
29. Ruiz, L. S., Pereira, V. B. R. *Bol Inst Adolfo Lutz*, **2016**, *26*, 3.
30. Santana, W. O., Fortuna, J. L. *Revista Biociências*, **2012**, *18*, 64.
31. Santos, F. M., Gonçalves, V. M. S. *Revista Enfermagem Integrada*, **2009**, *2*, 163.
32. Silva, A. K. F., Lisboa, J. E. S., Barbosa, M. P. C. S., Lima, A. F. *Cadernos de Graduação*, **2014**, *2*, 47.
33. Silva, R. M., Sandri, A. P. G., Nakano, V., Nishiyama, S. A. B. *REVISTA UNINGÁ*, **2017**, *4*.
34. Tuon, F. F.; Costa, S. F. *Revista Iberoamericana de Micologia*, **2008**, *25*, 140.
35. Venceslau, E. M., Martins, R. P. P, Oliveira, I. D. *RBAC*, **2012**, *44*, 30.
36. Volkart, P. A., Spagiari, M. S., Bizani, D. *Arq. Cienc. Saúde UNIPAR*, **2017**, *20*, 32.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

***Tabela 1**. Presença de Rhodotorula em ambiente hospitalar de estudos publicados entre os anos 2000-2015.*

Autor	Ano	Origem da amostra	Amostras contaminadas por fungos	Amostras contaminas por *Rhodotorula*
García e Valles	2014	Mãos de profissionais da saúde, equipamentos e mobília	38	4 (11,5%)
Centeno e Machado	2004	Ar	714	20 (2,80%)
Cordeiro *et al*.	2010	Ar	80	19 (23,7%)
Passos *et al*.	2000	Mãos de profissionais da saúde	30	1(3,3%)
Pantoja *et al*.	2012	Ar	155	13 (8,4%)
Gonçalves *et al*.	2015	Leitos e Bancas	29	6 (20,7%)
Carrilo-Dover *et al*.	2009	Mãos de profissionais de saúde	97	8 (7,8%)

Fonte: Autores, 2018.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

UTILIZAÇÃO DE SISTEMAS NANOESTRUTURADOS DE CURCUMINA COMO NUTRACÊUTICOS: REVISÃO BIBILIOGRÁFICA

USE OF NANOSTRUCTURED CURCUMINE SYSTEMS AS NUTRACEUTICAL: BIBILIOGRAPHIC REVIEW

VIEIRA, Daniele Gonçalves[1*]; JURESZIK, Katriane Ariadne[2];

[1,2,]Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO), Laboratório de Nanotecnologia Farmacêutica, Rua Simeão Camargo Varela de Sá, 03, Vila Carli, cep 85040-080, Guarapuava – PR, Brasil (fone: +55 42 3629 8160)

** Autor correspondente*
e-mail: daniele.gonvieira@gmail.com

Received 11 April 2018; received in revised form 13 June 2018; accepted 13 June 2018

RESUMO

Nutracêuticos são alimentos ou parte de um alimento que proporcionam benefícios à saúde, incluindo a prevenção e/ou tratamento de doenças. Nesse sentido, a curcumina, principal composto ativo da cúrcuma, conhecida popularmente como açafrão-da-terra, merece considerável atenção como um nutracêutico, pois apesar da elevada instabilidade química, pode prevenir e tratar doenças multigênicas complexas, devido principalmente à sua ação antioxidante. Sendo assim, a nanotecnologia compreende uma importante ferramenta para aprimorar compostos com atividade terapêutica comprovada, porém com perfil farmacocinético reduzido, como a curcumina. Esta revisão bibliográfica descreve os resultados de estudos que utilizaram sistemas nanoestruturados contendo curcumina como nutracêuticos. A revisão sistemática da literatura foi realizada por meio da busca de artigos originais que abordavam o tema de interesse publicados nos últimos 10 anos. Os resultados demonstraram variedade em relação ao tipo do polímero e ao método de obtenção utilizados na preparação dos sistemas nanoestruturados descritos na literatura. Porém, de forma geral, a curcumina nanoencapsulada apresentou semelhanças em suas características físico-químicas e melhor desempenho biológico quando comparadas à curcumina livre, superando as limitações de seu uso. Sendo assim, a curcumina constitui um bom exemplo de substância de origem natural, cujas propriedades terapêuticas podem ser potencializadas mediante uso da nanotecnologia.

Palavras-chave: Nanotecnologia, Nanopartículas, Compostos Fitoquímicos, Polifenóis, Terapêutica.

ABSTRACT

Nutraceuticals are foods or part of a food that provide health benefits, including the prevention and / or treatment of diseases. In this sense, curcumin, the main active compound of turmeric, popularly known as saffron, deserves considerable attention as a nutraceutical because, despite high chemical instability, it can prevent and treat complex multigenic diseases, mainly due to its antioxidant action. Therefore, nanotechnology comprises an important tool to improve compounds with proven therapeutic activity, but with a reduced pharmacokinetic profile, such as curcumin. This literature review describes the results of studies using nanostructured systems containing curcumin as nutraceuticals. The systematic review of the literature was carried out by searching for original articles that addressed the topic of interest published in the last 10 years. The results showed variety regarding the type of polymer and the method of obtainment used in the preparation of nanostructured systems described in the literature. However, in general, nanoencapsulated curcumin showed similarities in its physico-chemical characteristics and better biological performance when compared to free curcumin, overcoming the limitations of its use. Therefore, curcumin is a good example of a naturally occurring substance which therapeutic properties can be enhanced through the use of nanotechnology.

Keywords: Nanotechnology, Nanoparticles, Phytochemicals, Polyphenols, Therapeutics.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

O termo nutracêutico deriva da fusão das palavras “nutrientes” e “farmacêuticos” (Lira *et al.*, 2009). O nutracêutico é um alimento ou parte de um alimento que proporciona benefícios à saúde, incluindo a prevenção e/ou tratamento de doenças, em especial as crônicas. Pode abranger desde nutrientes isolados, suplementos dietéticos na forma de cápsulas e alimentos processados tais como cereais, temperos, sopas e bebidas (Kwak; Jukes, 2001a, Andlauer; Fürst, 2002).

Nesse sentido, a curcumina merece considerável atenção como um nutracêutico, pois pode ser empregada para prevenir e tratar doenças multigênicas complexas, tais como as doenças cardiovasculares, doenças metabólicas, câncer, doenças neurológicas e degenerativas, as quais vem aumentando significativamente nos últimos anos (Gupta *et al.*, 2012).

A Curcumina é um polifenol extraído do rizoma da *Curcuma longa Linn*, uma planta pertencente à família *Zingiberaceae*, comum em regiões tropicais e subtropicais da Índia e da China (Ghosh; Banerjee; Sil, 2015), e é o principal composto ativo da cúrcuma, conhecida popularmente como açafrão-da-terra (Figura 1).

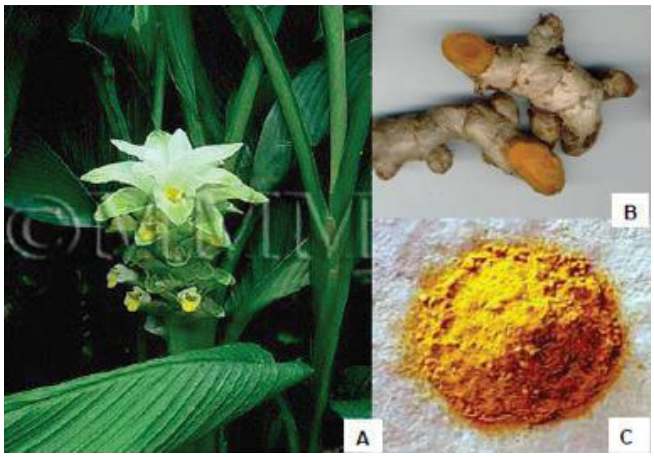


Figura 1. *Fotos das fontes botânicas de cúrcuma. (A) Curcuma longa Linn., planta com flor; (B) Rizoma e (C) Cúrcuma em pó seco (Basnet; Skalko-Basnet, 2011).*

São muitas as propriedades terapêuticas atribuídas a este composto nutracêutico (Prasad *et al*., 2014), e isso se deve ao fato da curcumina possuir diversas ações relacionadas ao tratamento ou prevenção da ocorrência de doenças no organismo humano (Tabela 1). Dentre as propriedades listadas, é importante ressaltar que a maioria dessas atividades biológicas estão relacionadas à ação antioxidante da curcumina (Akbik, *et al*., 2014).

Tabela 1*: Propriedades biológicas da curcumina.*

Propriedade Terapêutica	Referências
Anti-inflamatória	Huang et al., 1991; Jiang et al., 2006; Goel et al., 2008; Jurenka, 2009
Antioxidante	Unnikrishnan e Rao, 1992; Reddy e Lokesh, 1994; Jayaprakasha et al., 2006; Ak e Gulçin, 2008; Prasad et al. 2014
Antitumoral	Huang et al., 1997; Ozaki et al., 2000; Aggarwal et al., 2003; Heath et al., 2003; Singh e Khar, 2006; Goel et al., 2008; Kostel et al., 2012
Cardioprotetora	Nirmala e Puvankrishnan, 1996; Manikandan et al., 2004; Ansari et al., 2007; Li et al., 2008
Hipoglicêmica	Arun e Nalini, 2002; Weisberg et al., 2008; Kan e Kim, 2010)
Neuroprotetora	Tonnesen et al., 2002; Cole et al., 2007; Qin et al., 2010; Hussain, 2017

Fonte: Adaptado de Mazzarino (2013)

Porém, apesar de suas diversas atividades biológicas, quando em solução, a curcumina apresenta elevada instabilidade química, por influência tanto do solvente, quanto do pH do meio em que está solubilizada, se decompondo em pH básico ou neutro (Prasad *et al*., 2014), formando outros compostos fenólicos, como o ácido ferúlico e a vanilina (Sharma; Gescher; Steward, 2005; Goel; Kunnumakkara; Aggarwal, 2008), além de ser suscetível à degradação fotoquímica (Anand; Kunnumakkara; Newman, 2007; Tomren *et al*., 2007).

Assim, a farmacocinética da curcumina representa um desafio, uma vez que sua

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

biodisponibilidade e absorção intestinal são baixas (Kim *et al*., 2011; Khalil *et al*., 2013). Após administração oral, devido às propriedades acima descritas, grande parte da curcumina é excretada inalterada nas fezes, ou, como metabólitos conjugados excretados na urina, prejudicando suas atividades terapêuticas (Sharma; Gescher; Steward, 2005).

Dessa forma, a nanotecnologia é uma importante abordagem, que possui aplicações promissoras na pesquisa com nutracêuticos. O princípio básico da nanotecnologia consiste na alteração das características físico-químicas de um composto, onde sua interação com um polímero apresenta a capacidade de aprimorar estas características da molécula conferindo propriedades específicas ao sistema, permitindo inúmeras possibilidades de uso (Wei *et al.*, 2014).

Diversos estudos têm empregado essa técnica para a obtenção de sistemas nanoestruturados que atuam como carreadores da curcumina, a fim de melhorar suas características físico-químicas (Wang *et al*., 2014).

Sistemas nanoestruturados se caracterizam por apresentar tamanhos entre 5 e 1000 nm, sendo que, na área de saúde, o tamanho das nanopartículas (nps) deve apresentar média entre de 200 e 300 nm e podem ser compostas por polímeros sintéticos e/ou naturais, que sejam de preferência biodegradáveis, biocompatíveis e de baixo custo (Patel *et al.*, 2014).

Apesar da grande eficiência dos polímeros sintéticos, o processo de nanoencapsulação a partir destes ainda apresenta custo elevado (Nair; Laurencini, 2007). Assim, para um contínuo desenvolvimento da nanotecnologia, se torna necessário investigar a eficiência de polímeros de fácil acesso e baixo custo, como as proteínas, albumina, caseína, zeína entre outras.

As nps podem ser produzidas por meio de diversos métodos, sendo fatores de escolha, o tipo de composto a ser encapsulado, o tipo de polímero utilizado e a aplicação de interesse desse sistema nanoestruturado, sendo que estas escolhas determinam as características físico-químicas do sistema nanoestruturado, como por exemplo a distribuição do tamanho das partículas e a morfologia das mesmas, sendo que esses parâmetros influenciam a eficiência da encapsulação e a liberação do composto (Mohanraj; Chen, 2006).

No entanto, se observa nos estudos uma variabilidade tanto nos métodos e materiais empregados na obtenção dos sistemas nanoestruturados, quanto em suas características físico-químicas finais, sendo que o objetivo desta revisão bibliográfica é descrever os resultados de estudos que utilizaram sistemas nanoestruturados contendo curcumina como potencial nutracêutico.

MATERIAL E MÉTODOS

A revisão sistemática da literatura foi realizada em bases de dados eletrônicas por meio de busca manual em periódicos indexados.

A busca eletrônica foi conduzida por meio das bases de dados PubMed e Science Direct. Foram utilizados os seguintes descritores, em inglês: "curcumin", "nanoparticles", "nutraceutical". Uma análise inicial foi realizada com base nos títulos e nos resumos de todos os artigos que preenchiam os critérios de inclusão ou que não permitiam certeza de que deveriam ser excluídos. Após análise dos resumos, todos os artigos selecionados foram obtidos na íntegra e posteriormente examinados de acordo com os critérios de inclusão estabelecidos. Todos os processos de seleção e avaliação de artigos foram realizados por pares.

Foram utilizados como critérios de inclusão, manuscritos originais, que abordavam o desenvolvimento de sistemas nanoestruturados que utilizassem a curcumina como composto nutracêutico e que tivessem sido publicados nos últimos 10 (dez) anos, sendo excluídos os artigos de revisão bibliográfica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após busca bibliográfica a partir dos descritores já citados, foram encontrados 18 artigos, sendo 9 de revisão bibliográfica e 9 originais, estes então foram organizados e analisados considerando o tipo de polímero utilizado na formulação, o método de obtenção, a caracterização físico-química e a aplicação biológica como nutracêutico dos sistemas nanoestruturados desenvolvidos, como mostra a tabela 2.

Foi observada variedade em relação ao

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

tipo do polímero e ao método de obtenção utilizados na preparação dos sistemas nanoestruturados dos trabalhos encontrados na literatura, sendo que houveram diferenças em relação a estes resultados, porém, se destacaram o uso de polímeros naturais como matéria-prima e o método de dessolvatação para obtenção das nanopartículas.

A escolha do polímero para a produção das nanopartículas está relacionada ao tipo de fármaco ou composto que se deseja veicular e a via de administração a ser usada (Kratz, 2008; Neha; Tarun; Ajay, 2012; Yuan *et al*., 2014). Os materiais utilizados na produção, devem apresentar biodegradabilidade e atoxicidade no organismo humano. Além de que, os polímeros naturais apresentam custo reduzido em relação aos sintéticos (Legrand *et al*., 2007; Nair; Laurencin, 2007; Dash *et al*., 2011).

Nesse contexto, o uso da dessolvatação para a obtenção de nanopartículas é amplamente descrito na literatura como método utilizado para encapsular compostos hidrofóbicos assim como a curcumina (Weber; Kreuter; Langer, 2000; Elzoghby; El-Fotoh; Elgindy, 2011).

É descrito na literatura que o princípio básico da nanotecnologia consiste na alteração das características físico-químicas de um composto, onde sua interação com um polímero apresenta a capacidade de aprimorar estas características da molécula, conferindo propriedades específicas ao sistema e permitindo inúmeras possibilidades de uso (Wei *et al*., 2014).

Nesse sentido, foi possível observar nesta revisão que as características físico-químicas dos sistemas nanoestruturados de curcumina obtidos, apresentaram semelhanças em relação ao diâmetro médio (DM) com valores entre 50 e 250 nm, ao índice de polidispersão (IPD) que variou de 0,2 a 0,3 e o potencial Zeta (PZ) com -30 e -45 mV de variação (Tabela 2).

O tamanho, distribuição e a carga superficial da partícula, são parâmetros que determinam não só a estabilidade física das nanopartículas como também, seu destino após administração, a interação com as membranas biológicas, a penetração do composto através das barreiras fisiológicas, sua permanência na corrente sanguínea e sua subsequente liberação (Wu; Zhang; Watanabe, 2011).

De acordo com Gupta e Kompella (2006), sistemas nanoestruturados com diâmetro inferior a 300 nm, apresentam maior estabilidade para aplicação parenteral por não serem facilmente sequestrados pelo sistema retículo endotelial. Já o índice de polidispersão das partículas, está associado com a distribuição do tamanho das nanopartículas obtidas, e valores entre 0,2 e 0,3 corroboram com valores descritos na literatura para a curcumina (Patravale; Date; Kulkarni, 2004; Yallapu; Jaggi; Chauhan, 2012).

Ainda sobre a caracterização das nanopartículas, o valor do potencial Zeta indica que as forças de atração e repulsão permitem que as partículas se agreguem ou não, e com isso formem precipitados insolúveis ou não. Valores próximos de ± 30mV conferem ao sistema coloidal maior estabilidade. O sistema coloidal perde a estabilidade física quando os valores se afastam de ± 30 mV, sendo esse parâmetro fortemente influenciado pelas variações de pH (Galisteo-González; Molina-Bolívar, 2014; Wei *et al*., 2014).

Com relação aos resultados da aplicabilidade biológica dos sistemas nanoestruturados como nutracêuticos dos artigos avaliados, de forma geral, a curcumina encapsulada nas formulações obtidas apresentou melhor desempenho quando comparadas à curcumina livre.

Isso pode ser observado, por exemplo, no estudo de Yu & Huang (2012), que investigaram a biodisponibilidade oral da curcumina em uma nanoemulsão à base de organogel, onde notavelmente, a concentração máxima absorvida da curcumina aumentou, demonstrando que a formulação de nanoemulsão foi capaz de melhorar a biodisponibilidade oral de curcumina.

Assim como Fares & Salem (2015), que demonstraram em seu estudo que as nanopartículas conjugadas com curcumina-inulina desempenham papel importante no aprimoramento da dissolução da curcumina, sendo que o aumento da taxa de dissolução aumenta a taxa de absorção no trato gastrointestinal (TG) e a biodisponibilidade nos tecidos.

Já Hu *et al*. (2015), descreveram resultados em seu estudo indicando que as nanopartículas de zeína-pectina carregadas com curcumina, podem ser desidratadas, para a utilização como ingrediente funcional em pó adicionados em alimentos e bebidas, o que não é possível ao se utilizar a curcumina livre, visto

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

seus problemas de degradação.

Ainda, de acordo com Aadinath *et al*. (2016), os nanomagnetoliposomas de β-ciclodextrina contendo curcumina apresentaram maior atividade de eliminação de radicais de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), em comparação com lipossomas de curcumina e curcumina livre, o que aumenta a chance dessa nanoformulação ser utilizada em estudos in vivo contra o câncer.

Harini *et al*. (2017) sugeriram que a conjugação de curcumina com as nanopartículas de sílica mesoporosa aumentou sua hidrofilicidade e dispersidade, resultando no aumento da indução à morte de células MCF-7.

E por fim, Guo *et al*. (2018), realizaram uma pesquisa sobre sistemas nanoestruturados para encapsular curcumina e resveratrol simultaneamente, sendo que os autores sugeriram que a formulação desenvolvida pode ser usada como sistema promissor de fornecimento de nutracêuticos antioxidantes, podendo ser incluídos em sucos, iogurtes e suplementos nutricionais.

CONCLUSÕES

A curcumina constitui um bom exemplo de substância de origem natural, cujas propriedades terapêuticas podem ser potencializadas mediante uso da nanotecnologia.

Múltiplos estudos realizados na última década indicaram a segurança e eficácia deste polifenol em processos terapêuticos, sendo que a curcumina possui propriedades antioxidante, anti-tumoral, anti-inflamatória, antimicrobiana, antiparasitária, antimutagênica, quimiopreventiva, entre outras, podendo ser utilizada como potente nutracêutico.

Entretanto, o uso da curcumina livre é limitado pela sua baixa solubilidade, metabolismo rápido, baixa biodisponibilidade e sensibilidade à luz. Esta revisão apresentou alguns exemplos bem-sucedidos na utilização de sistemas nanoestruturados contendo curcumina para superar as limitações no uso como nutracêutico para promoção da saúde, prevenção de doenças e melhora de suas atividades biológicas.

AGRADECIMENTOS:

Ao Laboratório de Nanotecnologia Farmacêutica da Universidade Estadual do Centro-Oeste.

REFERÊNCIAS:

1. Aadinath, W.; Bhushani, A.; Anandharamakrishnan, C. *Materials Science and Engineering C*, **2016,** v. 64, p. 293–302.
2. Akbik, D., Ghadiri, M., Chrzanowski, W., & Rohanizadeh, R. *Life sciences*, **2014**, v. 116, n. 1, p. 1–7,.
3. Anand, P.; Kunnumakkara, A. B.; Newman, R. A.; et al. *Molecular Pharmacology*, **2007**, v. 4, n. November, p. 807–818.
4. Andlauer, W.; Fürst, P. *Food Research International*, **2002,** v. 35, p. 171-176.
5. Basnet, P., Skalko-Basnet, N. *Molecules,* **2011,** v.16, p. 4567-4598.
6. Dash, M.; Chiellini F.; Ottenbrite, R. M.; Chiellini, E. *Progress in Polymer Science*, **2011**, v. 36, n. 981–1014.
7. Elzoghby, A. O.; El-Fotoh, W. S.; Elgindy, N. A. *Journal of Controlled Release*, **2011**, v. 153, p. 206-216.
8. Fares, M. M.; Salem, M. S. *Drug Development and Industrial Pharmacy,* **2015**, v. 41, n. 11, p. 1785–1792.
9. Galisteo-González, F.; Molina-Bolívar, J.A. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **2014**, v. 123, p. 286- 292.
10. Ghosh, S.; Banerjee, S.; Sil, P. C. *Food and Chemical Toxicology*, **2015**, v. 83, p. 111–124.
11. Goel, A.; Kunnumakkara, A. B.; Aggarwal, B. B. *Biochemical Pharmacology*, **2008**, v. 75, n. 4, p. 787–809.
12. Guo, C.; Yin, J.; Chen, D. *Carbohydrate Polymers*, **2018**, v. 181, n. November, p. 1033–1037.
13. Gupta, R. B.; Kompella, U. B. *New York: Taylor & Francis*, 2006.
14. Gupta, S. C.; Patchva, S.; Koh, W.; Aggarwal, B. B. *Clinical and Experimental Pharmacology Physiology,* **2012,** v. 39, n. 3, p. 283–299.
15. Harini, L. Karthikeyan, B.; Srivastava, S.; et al. *IET Nanobiotechnology*, **2017**, v. 11, n. 1, p. 57–61.
16. Hu, K. Huang, X.; Gao, Y.; et al*. Food Chemistry*, 2015, v. 182, p. 275–281.
17. Khalil, N.M.; do Nascimento, T.C.; Casa. D.M.; Dalmolin, L.F.; de Mattos, A.C.;

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Hoss, I.; Romano, M.A; Mainardes, R.M. *Colloids Surf B Biointerfaces*. **2013** Jan 1;101:353-60.
18. Kim, T.H.; Jiang, H.H.; Youn, Y.S.; Park, C.W.; Tak, K.K.; Lee, S; Kim, H.; Jon, S.; Chen, X.; Lee, K.C. *Int J Pharm*, **2011** Jan 17;403(1-2):285-91.
19. Kratz, F. *Journal of Controlled Release*, **2008**, v. 132, p. 171-183.
20. Kwak, N.; Jukes, D. J. *Food Control*, **2001a,** v. 12, p. 99-107.
21. Legrand, P.; Lesieur, S.; Bochot, A.; Gref, R.; Raatjes, W.; Barratt, G.; Vauthier, C. *International Journal of Pharmaceutics*, **2007**, v. 344, p. 33-43.
22. Lira, C. R. G.; Zucco, F.; Negrão, A. N.; Silva, M. A. S.; Murakami, F. S. *Revista Brasileira de Farmácia*, **2009,** v. 90, n. 1, p. 45-49.
23. Mazzarino, L. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina e Université de Grenoble, Brasil/ França, 2013.
24. Miquel, J.; Bernd, A.; Sempere, J. M.; Díaz-Alperi, J.; Ramírez, A. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, **2002**, v. 34, n. 1, p. 37–46.
25. Mohanraj, V. J.; Chen, Y. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **2006,** v. 5, n. 1, p. 561-573.
26. Nair, L. S.; Laurencin, C. T. *Progress in Polymer Science*, **2007**, v.32, n. 8-9, p.762-798.
27. Neha, A.; Tarun, G.; Ajay, B. *International Research Jounal of Pharmacy*, **2012**, v.3, n. 1, p.41-45.
28. Patel, A.; Patel, M.; Yang, X.; Mitra, A. K. *Protein Peptide Letters,* **2014,** v.21, n. 11, p. 1102-1120.
29. Patravale, V.B.; Date, A.A.; Kulkarni, R.M. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **2004**, v. 56, n. 7, p. 827-840.
30. Prasad, S.; Gupta, S. C.; Tyagi, A. K.; Aggarwal, B. B. *Biotechnology Advances*, **2014**, v. 32, n. 6, p. 1053–1064.
31. Sharma, R. A.; Gescher, A. J.; Steward, W. P. *European Journal of Cancer*, **2005** v. 41, n. 13, p. 1955–1968.
32. Teng, Z.; Li, Y.; Wang, Q. *Journal of agricultural and food chemistry*, **2014**.
33. Teng, Z.; Luo, Y.; Wang, Q. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2012**, v. 60, n. 10, p. 2712–2720.
34. Tomren, M. A.; Másson, M.; Loftsson, T.; Tønnesen, H. H. *International Journal of Pharmaceutics*, **2007**, v. 338, n. 1–2, p. 27–34.
35. Wang, S.; Su, R.; Nie, S.; Sun, M.; Zhang J.; Wu, D.; Moustaid-Moussa, N. *J Nutr Biochem*. **2014** Apr; 25(4):363-76.
36. Wang, Y.H. Wang, J.M.; Yang, X.Q.; Guo, J.; Lin, Y. *Food Funct*., **2015**, v. 6, p. 2636–2645.
37. Weber, C.; Kreuter, J.; Langer, K. *International Journal of Pharmaceutics*, **2000**, v. 196, n. 2, p. 197-200.
38. Wei, Y.; Li, L.; Xi, Y.; Quian, S.; Gao, Y.; Zhang, J. I*nternational Journal of Pharmaceutics*, **2014**, v. 476, p. 142-148.
39. Wei, Y.; Li, L.; Xi, Y.; Quian, S.; Gao, Y.; Zhang, J. *International Journal of Pharmaceutics,* **2014,** v. 476, p. 142-148.
40. Wu L.; Zhang J.; Watanabe W. *Physical and chemical stability of drug nanoparticles*, **2011**, v. 63, p. 456-469.
41. Yallapu, M. M.; Jaggi, M.; Chauhan, S. C. *Drug Discov Today*, **2012**, 17 (1-2): 71–80.
42. Yu, H.; Huang, Q. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2012**, v. 60, n. 21, p. 5373–5379.
43. Yuan, Z-X.; He, X-K.; Wu, X-J.; Yuan, G.; Fan, M.; Song, L-Q.; Xu, C-Q *International Journal of Pharmaceutics*, **2014**, v. 460, p. 196-204.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

***Tabela 2**: Sistemas nanoestruturados contendo curcumina como potencial nutracêutico desenvolvidos nos últimos 10 anos.*

Autores	Material	Tipo de Partícula/ Método de obtenção	Caracterização físico-química	Aplicação biológica
Teng et al. (2012)	Isolado de proteína de soja	Dessolvatação	*CUR 5% DM: 286,7 nm PZ: −34,5 mV	Não especificado
Yu; Huang (2012)	Organogel-Tween 20	Nanoemulsão	DM: 218 nm IPD: 0,280	Aumento da biodisponibilidade oral
Teng et al. (2014)	β-lactoglubulina	Dessolvatação	*CUR 15% DM: 213,9 nm IPD: 0,202 PZ: − 42,4 mV	Não especificado
Fares; Salem (2015)	Inulina	Não especificado	DM: 5-150 nm Liberação CUR: 90%	Aumento da taxa de dissolução
Hu et al. (2015)	Zeína/ Pectina	*Core-shell*- deposição eletrostática	DM: 250 nm IPD: 0,24 PZ: -28 mV	Estudo de desidratação das nanopartículas para uso como ingredientes funcionais em pó
Wang et al. (2015)	Zeína hidrolisada	Anti-solvente simples	DM: <50 nm PZ: −45 mV	Não especificado
Aadinath et al. (2016)	Óxido de ferro/ β-ciclodextrina	Microemulsão/ complexo de inclusão	DM: 67 nm EE%: 71%	Ensaio antioxidante sobre radical DPPH
Harini et al. (2017)	Sílica mesoporosa	Não especificado	DM: 100-220 nm EE%: 80 à 90%	Indução à morte de células MCF-7
Guo et al. (2018)	Oligossacaríde de hialuronano	Dispersão do filme	DM: 134,5 nm PZ: −29,4 mV	Encapsulação simultânea de 2 antioxidantes para uso como nutracêuticos

Fonte: os Autores.

Legenda: CUR – Curcumina; *Concentração máxima utilizada de CUR na formulação; DM – Diâmetro Médio; IPD – índice de Polidispersão; PZ – Potencial Zeta; mV - milivolts; EE% - Percentual de Eficiência de Encapsulação

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

APLICAÇÃO DAS ZEÓLITAS ZSM-5 E ZSM-12 (EM FORMA SÓDICA E AMONIACAL) NA ADSORÇÃO DE BÁRIO

APPLICATION OF ZSM-5 AND ZSM-12 ZEOLITES (IN SODIUM AND AMMONICAL FORMS) IN THE BARIUM ADSORPTION

OLIVEIRA, Daniele da Silva[1*]; SOUZA, Wallas Douglas de Macêdo[2]; SOUZA, Luiz Di[3]; SANTOS, Anne Gabriella Dias[4]; CALDEIRA, Vinícius Patrício da Silva[5]

[1,2,3,4,5] Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, Departamento de Química, Campus Central, Rua Professor Antônio Campos, s/n, cep 59600-000, Mossoró – RN, Brasil
(fone: +55 84 33152241)

** Autor correspondente*
e-mail: danielequimica@hotmail.com

Received 1 May 2018; received in revised form 10 June 2018; accepted 25 June 2018

RESUMO

Metais pesados são frequentemente lançados nos ambientes aquáticos através de várias fontes de processos industriais. Contudo, as tecnologias de tratamento convencionais demandam alto custo e/ou são ineficientes para a recuperação desses recursos. Nesse contexto, a aplicação técnica de adsorção tem ganhado destaque pela sua simplicidade e praticidade, principalmente, quando zeólitas são empregadas como adsorventes, devido à suas excelentes propriedades físico-químicas e texturais, dentre elas: sua grande disponibilidade, elevada seletividade e custo reduzido. O presente trabalho caracterizou e avaliou o desempenho das zeólitas Na-ZSM-5, Na-ZSM-12, NH_4-ZSM-5 e NH_4-ZSM-12 na adsorção de bário, como alternativa para o tratamento de água produzida. As zeólitas Na-ZSM-5 e Na-ZSM-12 foram sintetizadas através do método hidrotérmico e submetidas à troca iônica para obter a forma amoniacal (NH_4-ZSM-5 e NH_4-ZSM-12). A caracterização físico-química foi executada por: DRX, MEV, FRX e Adsorção/Dessorção de Nitrogênio, assim como a concentração de bário foi medida por Espectroscopia de Absorção Atômica (EAA). Os estudos de adsorção foram conduzidos sob agitação nos tempos de 1, 6, 12 e 24 h. Os resultados foram promissores para esta aplicação, pois a zeólita Na-ZSM-5 foi a que apresentou maior capacidade de adsorção, fato relacionado às suas propriedades texturais (volume e a área de microporos).

Palavras-chave: Adsorventes; Nanomateriais; Troca iônica.

ABSTRACT

Heavy metals are often released into aquatic environments through various sources of industrial processes. However, conventional treatment technologies demand high cost and/or are inefficient for the recovery of these resources. In this context, the technical application of adsorption has been highlighted by its simplicity and practicality, especially when zeolites are used as adsorbents due to their excellent physical-chemical and textural properties, among them: their high availability, high selectivity and low cost. The present work characterized and evaluated the performance of Na-ZSM-5, Na-ZSM-12, NH_4-ZSM-5 and NH_4-ZSM-12 zeolites on barium adsorption as an alternative for the treatment of produced water. The Na-ZSM-5 and Na-ZSM-12 zeolites were synthesized by the hydrothermal method and subjected to ion exchange to obtain the ammoniacal form (NH_4-ZSM-5 and NH_4-ZSM-12). The characterization was done by: DRX, SEM, FRX and Adsorption / Desorption of Nitrogen, and barium concentration was measured by Atomic Absorption Spectroscopy (AAS). The adsorption studies were conducted under agitation at the times of 1, 6, 12 and 24 h. The results were promising for this application, because the Na-ZSM-5 zeolite presented the highest adsorption capacity, a fact related to its textural properties (volume and area of micropores).

Keywords: Adsorbents; Nanomaterials; Ionic exchange.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

O crescimento populacional aliado à expansão industrial e a falta de planejamento ambiental provocaram o comprometimento dos recursos hídricos (KUMAR *et al*., 2014). Metais pesados são frequentemente lançados nos ambientes aquáticos através de várias fontes, como as indústrias de fundição, têxteis, curtumes, microeletrônica, fertilizantes, pesticidas e indústria da mineração, embora possam, também, existir nas águas naturais em baixas concentrações (ALPATOVA *et al*., 2004; AL-QAHTANI, 2016; IBRAHIM *et al*., 2016).

A poluição ambiental por metais pesados oriundas de poços petrolíferos tem se tornado importante fonte de contaminações para o solo e água (YUSTA-GARCÍA *et al*., 2017). A água produzida (AP) é um dos resíduos de maior preocupação por ser uma mistura complexa de elementos químicos, compostos orgânicos e inorgânicos e íons em solução, os quais são muitas vezes prejudiciais ao ecossistema como um todo (BAKKE *et al*., 2013; LI *et al*., 2016). Segundo Neff (2002), vários metais pesados encontrados na água produzida estão presentes em concentrações substancialmente mais elevadas (1000 vezes ou mais) do que na água do mar circundante. Os metais frequentemente detectados em concentrações elevadas são bário, ferro, cálcio, estrôncio, magnésio, sódio e potássio (NEFF, 2002; BARBOSA *et al*., 2011; LI *et al*., 2016).

O bário (Ba^{2+}) é um dos elementos que mais chama atenção porque é prejudicial para animais, plantas e seres humanos (MEDEIROS *et al*., 2012). A exposição crônica humana ao excesso de bário está associada a problemas de insuficiência cardíaca e/ou renal, edema pulmonar, paralisia respiratória e hemorragias gástricas e respiratórias (KRAVCHENKO *et al*., 2014; PODDALGODA *et al*., 2017). Apesar do bário ser tóxico, a barita ($BaSO_4$) é frequentemente adicionada como um agente de auxílio às lamas de perfuração, visando neutralizar a pressão nas formações geológicas que estão a ser perfuradas, evitando uma explosão. Assim, quando o bário presente na água produzida entra em contato com água a injetada (que muitas vezes é rica em íons sulfatos), formam precipitados de baixa solubilidade denominados incrustações, que podem reduzir substancialmente a produção de petróleo e causar enormes prejuízos ao processo extrativo (NEFF, 2002; BARBOSA *et al*., 2011; BAKKE *et al*., 2013; LI *et al*., 2016).

Os processos convencionais de tratamento de efluente são financeiramente inviáveis, ou ineficientes na separação dos contaminantes. Assim o emprego de técnicas de adsorção tem sido amplamente utilizado e caracteriza-se por ser um processo propício para a remoção de metais de efluentes (PADILLA-ORTEGA *et al*., 2013).

O grande interesse na produção de materiais adsorventes de grande disponibilidade, elevada seletividade e custo reduzido, se intensificou nos últimos anos direcionando-se os estudos para materiais não convencionais que atendam aos requisitos para aplicações em processos baratos de remoção em substituição aos adsorventes convencionais onerosos (LV *et al*., 2014; AKPOMIE *et al*., 2015).

Dentro deste contexto, as zeólitas, materiais cristalinos microporosos surgem como uma alternativa promissora, por possuírem elevada capacidade de adsorção, podendo ser recuperadas e reutilizadas, tornando o processo economicamente viável e ambientalmente correto (MUNTHALI *et al*., 2015; FANG *et al*., 2016). A regeneração das zeólitas e sua posterior reutilização é um fator importante do ponto de vista econômico (industrial) e ambiental, pois possibilita a redução dos custos do tratamento e minimiza a geração de resíduos (LÓPEZ *et al*., 2011; SHAHBAZI *et al*., 2014; PINCHUKOVA *et al*., 2015; SUN *et al*., 2015; ZHANG *et al*., 2017). Já a troca iônica ocorre quando as zeólitas são colocadas em contato com uma solução aquosa das espécies de interesse numa temperatura selecionada (GAFFER *et al*., 2017). Os cátions presentes na solução difundem-se para o interior da estrutura da zeólita e substituem os cátions de compensação, até se atingir o equilíbrio.

Algumas zeólitas sintéticas já foram aplicadas com sucesso na remoção de metais pesados, tais como Cr^{3+}, Fe^{3+}, Co^{2+} e Zn^{2+} (BARROS *et al*., 2004; OSTROSKI *et al*., 2011; GAFFER *et al*., 2017).

Entre a grande diversidade de zeólitas encontram-se as zeólitas ZSM-5 e ZSM-12. A zeólita ZSM-5 tem uma estrutura com poros tridimensionais formados pela intersecção de canais retos com canais em zigue-zague, ambos contendo anéis de 10 tetraedros TO_4. As aberturas destes canais são elípticas, possuindo

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

dimensões de 5,1 x 5,5 Å na direção cristalográfica [100] e de 5,3 x 5,6 Å na direção [010] (PACE *et al*., 2000), como representado na Figura 1.

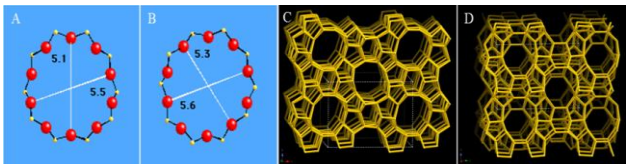


Figura 1*. a) anel de 10 TO_4 visto no plano [100], b) anel de 10 TO_4 visto no plano [010], c) estrutura MFI vista na direção [010] e d) estrutura MFI vista na direção [100] (IZA, 2018)*

Já a zeólita ZSM-12 possui uma estrutura com poros unidimensionais de abertura elíptica formadas por anéis de 12 tetraedros TO_4, com diâmetro de 5,6 x 6,0 Å (MEIER *et al*., 1996; KAMIMURA *et al*., 2012). De acordo com a Figura 2.

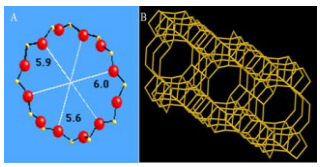


Figura 2*. a) anel de 12 membros visto no plano [010] e b) estrutura da ZSM-12 em 3D (IZA, 2018)*

Apesar da utilização de ambas como catalisador ácido em diversas reações (SARSHAR *et al*., 2009; GIL *et al*., 2010; IYOKI *et al*., 2010; ZHANG *et al*., 2012), elas podem ser utilizadas na adsorção de metais devido a características peculiares, tais como: alta área específica, elevada capacidade de adsorção, capacidade de troca iônica e estabilidade térmica e hidrotérmica. Tais zeólitas possuem em sua estrutura o cátion sódio (Na^+) que aumenta a capacidade de troca iônica, uma vez que o Na^+ é mais fácil de ser removido dos canais da zeólita que outros cátions, aumentando o potencial de adsorção do metal em solução.

A capacidade de trocar seus cátions por outros cátions é de extrema importância como propriedade fundamental das zeólitas, pois a sua estrutura não é alterada. No entanto, a substituição isomórfica dos cátions proporciona modificações pertinentes das suas propriedades. Essas zeólitas podem ser submetidas, por exemplo, ao processo de troca iônica que consiste na substituição dos cátions Na+, íons que equilibram a carga da estrutura de rede da zeólita, por cátions NH_4^+ que continuam a compensar a mesma carga.

Desse modo o presente trabalho teve como foco caracterizar e avaliar o desempenho das zeólitas Na-ZSM-5, Na-ZSM-12, NH_4-ZSM-5 e NH_4-ZSM-12 na adsorção de bário, como alternativa para o tratamento de água produzida (AP).

MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção das zeólitas ZSM-5 e ZSM-12

A zeólita do tipo ZSM-5 foi sintetizada através de método hidrotérmico, com razão molar de Si/Al igual a 25. O procedimento de síntese da zeólita ZSM-5 foi de acordo com o proposto por Silva *et al*. (2004), com a seguinte proporção estequiométrica molar: 10,6 TPABr : 14,3 Na_2O : 2,0 Al_2O_3 : 100 SiO_2 : 2000 H_2O. Após a obtenção do gel de síntese, o mesmo foi transferido para uma autoclave de teflon revestida com aço inoxidável e aquecida em estufa a 150 ºC por 168 h (7 dias), sob pressão autógena e condições estáticas. Após a cristalização, a autoclave foi retirada da estufa e resfriada até temperatura ambiente de 25 ºC. O sólido resultante do processo de cristalização foi separado do líquido sobrenadante por filtração a vácuo, lavado com água destilada (até o pH atingir valor neutro) e seco em estufa a 100 ºC por 12 h.

A síntese da zeólita ZSM-12 seguiu o procedimento proposto por Araújo *et al*. (2005) com adaptações. O gel de síntese teve a seguinte proporção estequiométrica molar: 20 MTEA : 10 Na_2O : 2 Al_2O_3 : 100 SiO_2 : 2000 H_2O. Com razão molar de Si/Al igual a 25, semelhante à da ZSM-5 devido a comparação entre as zeólitas. Após a obtenção do gel de síntese, este foi transferido para uma autoclave de teflon revestida com aço inoxidável e aquecida em estufa a 160 ºC por 144 h (6 dias), sob pressão autógena e condições estáticas. Os procedimentos posteriores foram semelhantes aos citados anteriormente para síntese da zeólita ZSM-5.

Para eliminar as moléculas de agente orgânico direcionador de estrutura do interior dos poros das zeólitas foi executado um procedimento de calcinação, em que as amostras foram submetidas a uma rampa de aquecimento de 10 ºC min^{-1} da temperatura

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ambiente até atingir 550 ºC e permaneceram por 10 h, em atmosfera estática de ar sintético. Ao fim deste tratamento térmico, as zeólitas encontram-se na forma sódica (Na-ZSM-5 e Na-ZSM-12).

2.2 Obtenção das zeólitas na forma amoniacal

A partir das zeólitas em sua forma sódica foi realizada a troca iônica em sistema de refluxo, a 80 °C por 2 h, em que os cátions sódio (Na^+) foram substituídos por cátions amônio (NH_4^+), a partir de solução aquosa 1 mol L^{-1} de cloreto de amônio (NH_4Cl). Para garantir um processo de troca iônica eficiente, faz-se necessário a repetição de tal procedimento por 3 vezes. Após a troca iônica, as zeólitas encontram-se em seu estado amoniacal (NH_4-ZSM-5 e NH_4-ZSM-12).

2.3 Técnicas de caracterizações das zeólitas

As propriedades físico-químicas, texturais e estruturais foram determinadas por:

(a) DRX - A difração de raios-X (DRX) é uma técnica muito útil na caracterização de materiais zeolíticos, já que permite identificar as fases cristalinas e determinar o grau de cristalinidade dos materiais. Foi empregado o método do pó, em um equipamento modelo Mini Flex II, marca RIGAKU aplicando radiações de CuKα, em uma voltagem de 30 kV e corrente de tubo de 15 mA. A abertura da fenda foi de 0,15º e o feixe foi defasado em relação a amostra com velocidade de 2º min^{-1} e passo de 0,02º, os dados foram coletados em alto ângulo em uma faixa de graus 2θ de 5 a 50°.

(b) FRX- A técnica de fluorescência de Raios-X (FRX) foi realizada para quantificar os elementos; Silício (Si), Alumínio (Al) e Bário (Ba) presente nas zeólitas. O equipamento utilizado foi o EDX-7000 da Shimadzu, equipado com tubo de Rh, feixe de 10 mm de diâmetro, as amostras foram colocadas num suporte de polipropileno, realizando as medidas em atmosfera de ar, com tempo de aquisição de 100 s por canal analítico.

(c) MEV- A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi aplicada com o intuito de observar morfologicamente a agregação dos materiais sintetizados, bem como o tamanho das partículas. Para isto, foi utilizado o equipamento da empresa TESCAN modelo MIRA3 FEG-SEM. Antes das análises as amostras foram submetidas a um banho de ultrassom em acetona por 15 minutos para desaglomeração das partículas. Em seguida as amostras foram gotejadas em uma fina fita de carbono fixada ao stub. Por fim, um procedimento de metalização por uma fina camada de filme de ouro foi executado, com o objetivo de tornar a amostra boa condutora de elétrons e assim produzir boa qualidade e resolução de imagem, o equipamento utilizador foi o metalizador QUORUM modelo Q150R ES.

(d) Adsorção/dessorção de N_2- A técnica de adsorção e dessorção de nitrogênio (N_2) a temperatura constante de 77 K permite determinar as propriedades texturais dos catalisadores. O adequado tratamento da isoterma resultante permite calcular diferentes parâmetros dos catalisadores, tais como: área específica, área externa, área de microporos, volume de microporos e distribuição do diâmetro de poros. O equipamento utilizado para tal análise foi MICROMERITICS modelo ASAP 2020, dotado com bomba turbomolecular e aplicação dos métodos: B.E.T.; t-plot e Non-Local Density Functional Theory (NL-DFT). As amostras foram desgaseificadas previamente sob vácuo a 300 ºC durante 10 h. Em seguida, quantidades adequadas de nitrogênio foram dosificadas para obter as isotermas de adsorção e dessorção de nitrogênio em função da pressão relativa.

2.4 Ensaios de Adsorção de Bário

Os estudos de adsorção do íon metálico Bário (Ba^{2+}) foram conduzidos sob agitação à temperatura ambiente, utilizando 100 mL de uma solução de cloreto de bário contendo 55 ppm de bário para 100 mg das zeólitas nos períodos de 1, 6, 12 e 24 h.

Mediu-se a concentração residual de bário na solução nesses tempos com a técnica de espectroscopia de absorção atômica (EAA). Usou-se um equipamento VARIAN modelo AA50. Os ajustes instrumentais foram os recomendados no manual do fabricante e as análises executadas em duplicata. Utilizou-se como mistura gasosa óxido nitroso/ar acetileno. A linearidade do método para determinação de bário foi verificada dentro da faixa recomendada para o equipamento. Tanto nas amostras quanto no padrão adicionou-se uma solução supressora de KCl (MERCK) de maneira que sua concentração das soluções fosse de 2000 mg L^{-1}.

A capacidade de adsorção do material adsorvente Q (mg do Ba^{2+}/g do adsorvente) foi

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

determinada com base na diferença da concentração dos íons metálicos, usando-se a Equação 1:

$$Q = \frac{(C_{0-} C_f)*V}{m} \quad \text{(Eq. 1)}$$

Onde C_0 é a concentração inicial (mg L^{-1}); C_f, concentração final (mg L^{-1}); V, volume da solução (L); *m*, massa do adsorvente (g).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 3 encontram-se os difratogramas das zeólitas Na-ZSM-5 e Na-ZSM-12. Pode-se observar que ambas as zeólitas apresentaram cristalinidade significativa referente aos seus padrões do banco de dados internacional de zeólitas (IZA- *International Zeolite Association*) (IZA, 2018), com picos estreitos e de elevada intensidade a alto ângulo. A elevada cristalinidade é definida por uma linha base retilínea, a qual indica ausência de material amorfo. A Na-ZSM-5 apresentou estrutura cristalina tipo MFI com cinco picos característicos referentes aos índices de Miller [(0 1 1), (2 0 0), (0 5 1) (0 3 3)], de elevada intensidade semelhante ao padrão proposto pela IZA. A Na-ZSM-12 expôs estrutura cristalina do tipo MTW com picos característicos referentes aos índices de Miller [(2 0 0), (0 0 2), (-2 0 2), (3 1 0), (0 0 6), (-4 0 6)], de elevada intensidade similar ao padrão proposto pela IZA. Estes resultados encontram-se de acordo com os apresentados na literatura (SILVA, 2004; KAMIMURA *et al*., 2012; CALDEIRA *et al*., 2016), indicando que foram produzidas as duas zeólitas na forma pura.

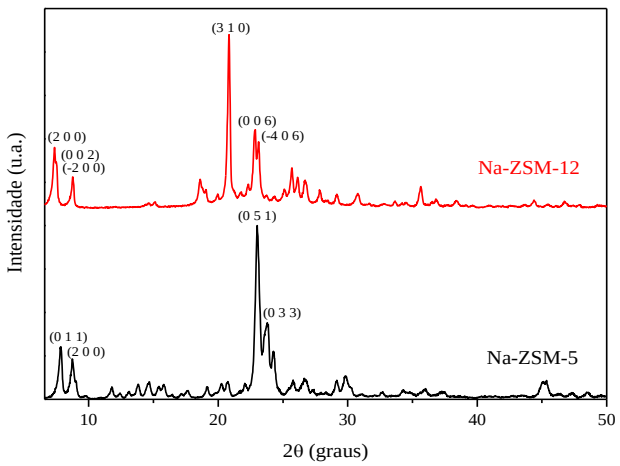


Figura 3. *Difratogramas das zeólitas Na-ZSM-5 e Na-ZSM-12*

A micrografia eletrônica de varredura (MEV) demonstrada na Figura 4 indica que a ZSM-12 é formada por um aglomerado de cristais na forma de bastões prismáticos bem definidos. Entretanto, a ZSM-5 demonstra uma morfologia de partículas esféricas formadas por aglomerados de pequenos cristais de bastões prismáticos, de acordo com a literatura (SILVA, 2004; LI *et al*., 2014). Esse resultado confirma que essas zeólitas possuem alto grau de cristalinidade e são isentos de fase amorfa, corroborando com a cristalinidade apresentada na análise de DRX.

Com o objetivo de avaliar as propriedades texturais das zeólitas sintetizadas fez-se uso da técnica de adsorção e dessorção de nitrogênio (N_2) a 77 K. As isotermas obtidas nesta técnica permitem determinar propriedades de área e volume, tais como: superfície específica, superfície externa aos microporos, superfície microporosa, volume total, volume microporoso e distribuição do volume de poros em função do diâmetro dos poros. A Figura 5 representa as isotermas de adsorção e dessorção de N_2 a 77 K em escala linear das zeólitas. As zeólitas demonstraram isotermas do tipo I, conforme a IUPAC (GE *et al*., 2015), característico para sólidos microporosos (com diâmetro inferior a 2 nm), onde a maior parte do volume adsorvido encontra-se a baixas pressões relativas (p/p0 < 0,2) respectivo ao preenchimento da monocamada. Essas zeólitas apresentaram perfis de isoterma semelhante aos relatados na literatura (SILVA, 2004; THOMMES *et al*., 2015) para sólidos microporosos com cristalinidade bem definida, corroborando com as análises de DRX e MEV. Para a Na-ZSM-12 percebe-se um acentuado volume adsorvido a pressão relativa entre 0,75-0,97 que pode ser explicado devido à presença de espaços intersticiais presentes no material.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

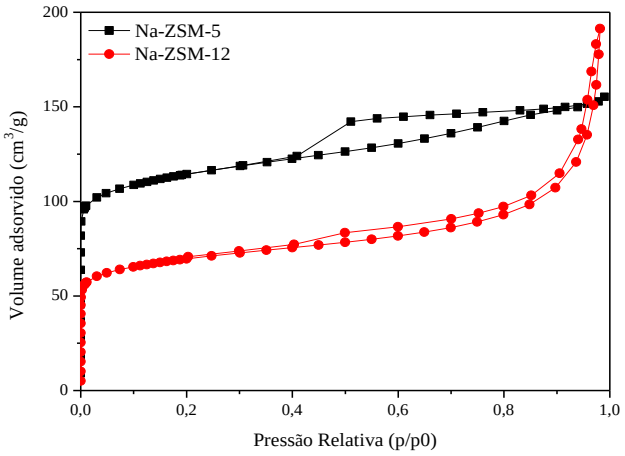


Figura 5. *Isotermas de adsorção e dessorção de N_2 da Na-ZSM-5 e Na-ZSM-12*

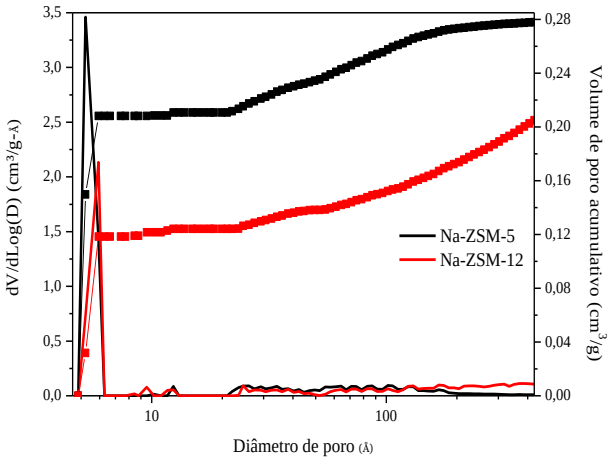


Figura 6. *Distribuição do diâmetro e volume de poros acumulados das zeólitas*

O modelo NL-DFT (*Non Localized Density Functional Theory*) foi aplicado para obter o volume acumulado e a distribuição do diâmetro de poro (dV/dlog(Dp)). A Figura 6 evidencia uma porosidade característica de fase microporosa com os diâmetros de poros de 5,2 Å para Na-ZSM-5 e de 6 Å para Na-ZSM-12, esses resultados estão de acordo com a faixa de diâmetro de poro encontrado no banco de dados da IZA para essas zeólitas, onde a Na-ZSM-5 tem um diâmetro de poro menor devido ser uma zeólita de poros médios, contudo a Na-ZSM-12 é considerada uma zeólita de poros grandes. Os valores de volume e área, dos microporos, obtidos a partir das curvas de distribuição de poros e volume acumulado estão expressos na Tabela 1. De acordo com este resultado, percebe-se que a zeólita Na-ZSM-5 apresentou maior superfície especifica (S_{BET}), volume de microporos (V_{MIC}), área externa aos microporos ($S_{EXT-MIC}$) e a área de microporos (S_{MIC}). Este resultado pode ser explicado analisando-se a geometria das partículas obtidas por MEV (Figura 4). Enquanto que a zeólita Na-ZSM-12 é formada por um aglomerado de cristais na forma de bastões prismáticos bem definidos, a Na-ZSM-5 é formada por partículas, esféricas de grandes dimensões, porém, essas são formadas por aglomerados de pequenos cristalitos contendo espaços vazios, que proporcionam maior relação entre a área externa e o volume da partícula.

Tabela 1. *Dados das propriedades texturais das zeólitas*

Propriedade	**Amostra**	
	Na-ZSM-5	Na-ZSM-12
S_{BET} ($m^2\ g^{-1}$)	391	239
V_{MIC} ($cm^3\ g^{-1}$)	0,123	0,068
$S_{EXT-MIC}$ ($m^2\ g^{-1}$)	123	90
S_{MIC} ($m^2\ g^{-1}$)	269	149
V_{TOT} ($cm^3\ g^{-1}$)	0,240	0,296

O processo de troca iônica nas zeólitas é influenciado por diversos fatores, tais como a concentração e a natureza dos cátions e dos ânions e da estrutura cristalina da zeólita (SPRYNSKYY *et al*., 2006; CASTALDI *et al*., 2008). Pode-se observar o efeito da capacidade de adsorção dos adsorventes na Figura 7. Percebe-se que a capacidade de adsorção (Q) atinge o ponto máximo em 6 h com exceção da Na-ZSM-12, que tem o máximo em 12 h, o que pode ser explicado em função das limitações difusionais de sua estrutura. Esses resultados mostram que a adsorção de bário pelas zeólitas ocorre de forma progressiva, e tende a se tornar constante num ponto máximo. Esse efeito pode ser mais bem compreendido se considerarmos o seguinte equilíbrio de adsorção:

$$\textbf{Adsorvente}_{(s)} + \textbf{íon metálico}_{(aq)} + \textbf{H}_2\textbf{O}_{(aq)} \rightleftharpoons (\textbf{adsorvente – íon metálico})_{(s)} + \textbf{H}_2\textbf{O}_{(aq)}$$

Quando o tempo aumenta, as moléculas ou íons ocupam, progressivamente, os sítios preferenciais do adsorvente e desse modo o equilíbrio é deslocado favorecendo a retenção do íon no adsorvente e, portanto, o valor de Q aumenta até atingir o valor máximo. Em

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

determinado valor de concentração, no entanto, não haverá sítios ativos suficientes no adsorvente para a adsorção de mais íons ou moléculas; atingida essa condição, o adsorvente torna-se o reagente limitante e os valores de Q tendem a permanecerem inalterados com o tempo (AMUDA *et al*., 2007). Como o processo de adsorção é dinâmico, quando Q permanece constante, as moléculas que estão em solução se chocam com a superfície do adsorvente, enquanto outras migram da superfície do adsorvente em direção à solução podendo causar ligeiras diferenças próximas do valor de máximo obtido (AMUDA *et al*., 2007).

A zeólita Na-ZSM-5 apresentou maior capacidade de adsorção (21,45 mg de Ba^{2+}/g), o que está relacionado com as suas propriedades texturais como o volume e a área de microporos. Os resultados indicam que o cátion sódio é mais fácil de ser substituído quando comparado aos íons amônio, podendo ser explicado devido à sua fraca interação com a estrutura do sólido, aliada ao seu tamanho do raio iônico. Além disso, quando os cátions são volumosos, como é o caso dos cátions amônio, a troca iônica também é limitada pela curta distância entre sítios trocáveis vizinhos, dificultando a acomodação dos cátions (HUI *et al*., 2005; BARBOSA *et al*., 2011). Através desse resultado também foi possível notar que 100 mg de catalisadores podem reduzir em até 39 % o teor de bário na água analisada.

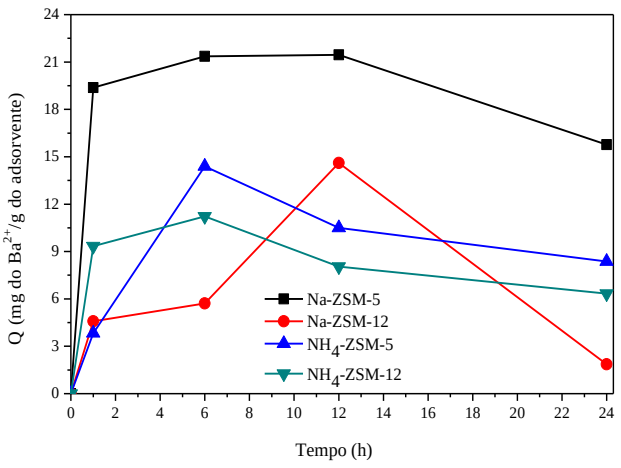


Figura 7. *Capacidade de adsorção dos adsorventes determinada via EAA em função do tempo de adsorção*

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados de FRX do adsorvente antes da adsorção e após 24 h de adsorção. As amostras antes da adsorção não apresentaram nenhum percentual de bário, indicando que as zeólitas não tinham presença do metal em sua estrutura. Os resultados de FRX convergem com os da adsorção, no qual a amostra Na-ZSM-5 apresentou maior percentual de bário. Após atingir o equilíbrio em 12 h, com capacidade máxima de adsorção, alguns íons bário migram da superfície do adsorvente para a solução. Com 24 h, apesar da capacidade de adsorção diminuir, a análise de FRX demonstra que quantidades significativas de íons bário continuam adsorvidas nas zeólitas que confirmam a existência desses fenômenos causados pelas propriedades das zeólitas, possibilitando a recuperação do adsorvente ao final do processo tornando-o economicamente viável e ambientalmente correto.

Tabela 2. *Valores percentuais de Si, Al e Ba presentes nas zeólitas*

Amostra	Si (%)	Al (%)	Ba (%)
Na-ZSM-5	93,64	6,36	0
Na-ZSM-12	94,37	5,63	0
NH_4-ZSM-5	93,25	6,75	0
NH_4-ZSM-12	94,29	5,71	0
Na-ZSM-5 24 h	90,30	6,81	2,89
Na-ZSM-12 24 h	93,37	5,40	1,23
NH_4-ZSM-5 24 h	91,30	6,94	1,76
NH_4-ZSM-12 24 h	92,73	5,97	1,30

CONCLUSÕES

As zeólitas sintetizadas apresentaram cristalinidade significativa, conforme resultados de difração de raios-X. A zeólita ZSM-5 na forma sódica apresentou maior percentual de bário adsorvido, o que está relacionado com o seu volume e a área de microporos. A inserção de amônio altera as propriedades dos catalisadores e diminui a capacidade de adsorção das duas zeólitas estudadas. Os ensaios de adsorção apresentaram-se promissores para aplicação no tratamento de água produzida, já que 100 mg de catalisadores podem reduzir em até 39 % o teor de bário na água analisada.

REFERÊNCIAS

1. Kumar, E.; Bhatnagar, A.; Hogland, W.; Marques, M.; Sillanpää, M. *Adv. Colloid Interface Sci*. **2014**, *203*, 11.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

2. Alpatova, A.; Verbych, S.; Bryk, M.; Nigmatullin, R.; Hilal, N. *Sep. Purif Technol*, **2004**, *40*, 155.

3. Al-Qahtani, K. M. *J. Taibah Univ Sci*, **2016**, *10*, 700.

4. Ibrahim, W. M.; Hassan, A. F.; Azab, Y. A. *EJBAS*, **2016**, *3*, 241.

5. Yusta-García, R.; Orta-Martínez, M.; Mayor, P.; González-Crespo, C.; Rosell-Melé, A. *Environ Pollut*, **2017**, *In Press*.

6. Bakke, T.; Klungsøyr, J.; Sanni, S. *Mar Environ, Res*, **2013**, *92*, 154.

7. Li, L.; Al-Muntasheri, G. A.; Liang, F. *Petroleum*, **2016**, *2*, 313.

8. Neff, J. M. In: Barium in the Ocean. *Elsevier*: Londom, **2002**, cap. 4.

9. Barbosa, C. D. A. S.; Garcia, C. A. B.; Andrade, A. C. S.; Garrido Pedrosa, A. M.; Vasconcelos, D. F.; Souza, D. N. *Scientia Plena*, **2011**, *7*, 1.

10. Medeiros, R. J.; Santos, M. G. S.; Freire, A. S.; Santelli, R. E.; Braga, A. M. C. B.; Krauss, T. M.; Jacob, S. C. *Food Control*, **2012**, *23*, 535.

11. Kravchenko, J.; Darrah, T. H.; Miller, R. K.; Lyerly, H. K.; Vengosh, A. Environmental *Environ Geochem Hlth*, **2014**, *36*, 797.

12. Poddalgoda, D.; Kristin Macey, K.; Henry Assad, H.; Kannan Krishnan, K. *Regul Toxicol Pharm*, **2017**, *86*, 303.

13. Padilla-Ortega, E.; Leyva-Ramos, R.; Flores-Cano, J. V. *Chem Eng J*, **2013**, *225*, 535.

14. Lv, G.; Li, Z.; Jiang, W. T.; Ackley, C.; Fenske, C.; Demarco, N. *Chem Eng Res Des*, **2014**, *92*, 384.

15. Akpomie, K. V.; Dawodu, F. A.; Adebowale, K. O. *AEJ*, **2015**, *54*, 757.

16. Munthali, M.W.; Johan, E.; Aono, H.; Matsue, N. *JASCER*, **2015**, *3*, 245.

17. Fang, X. H.; Fang, F.; Lu, C. H.; Zheng, L. *Nucl Eng Technol*, **2016**, *In Press*.

18. López, A.; Marco. I.; Caballero, B. M.; Adrados, A.; Laresgoiti, M. F. *Waste Manage*, **2011**, *31*, 1852.

19. Shahbazi, A.; Gonzalez-Olmos, R.; Kopinke, F. D.; Zarabadi-Poor, P.; Georgi, A. *Sep Purif Technol*, **2014**, *127*, 1.

20. Pinchukova, N. A.; Voloshko, A. Y.; Baumer, V. N.; Shishkin, O. V.; Chebanov, V. A. *Chem Eng Process: Process Intensification*, **2015**, *95*, 151.

21. Sun, H. Y.; Sun, L. P.; Li, F.; Zhang, L. *Fuel Process Technol*, **2015**, *134*, 284.

22. Zhang, W.; Zhou, Z.; An, Y.; Du, S.; Ruan, D.; Zhao, C.; Ren, N.; Tian, X. *Chemosphere*, **2017**, *178*, 565.

23. Gaffer, A.; Aman, D.; Kahlawy, A. A. A. *Egyptian Journal of Petroleum*, **2017**, *In Press*.

24. Barros, M. A. S. D.; Silva, E. A.; Arroyo, P.A.; Tavares, C. R. G.; Schneider, R. M.; Suszek, M.; Sousa-Aguiar, E. F. Chem Eng Sci, 2004, 59, 5959.

25. Ostroski, I. C.; Borba, C. E.; Silva, E. A.; Arroyo, P. A.; Guirardello, R.; Barros, M. A. S. D. *Chem Eng J*, **2011**, *56*, 375.

26. Pace, G. G.; Rendón, A. M.; Fuentes, G. R. Zeolitas: características, propiedades y aplicaciones industriales, 2a ed., *EdIT*: Caracas, **2000**.

27. International Zeolite Association - IZA. Disponível em: http://www.iza-structure.org/databases/. Acesso em: 20 fev. 2018.

28. Meier, W. M.; Olson, D. H.; Baerlocher, C. H. Atlas of zeolite structure types, 4ª ed., *Elsevier*: Amsterdam, **1996**.

29. Kamimura, Y.; Itabashi, K.; Okubo, T. Microporous and *Micropor Mesopor Mat*, **2012**, *147*, 149.

30. Sarshar, Z.; Zahedi-Niaki, M. H.; Huang, Q.; Eic, M.; Kaliaguine, S. *Appl Catal B-*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Environ, **2009**, *87*, 37.

31. Gil, B.; Mokrzycki, Ł.; Sulikowski, B.; Olejniczak, Z.; Walas, S. *Catal Today*, **2010**, *152*, 24.

32. Iyoki, K.; Kamimura, Y.; Itabashi,K.; Shimojima, A.; Okubo, T. *Chem Lett*, **2010**, *39*, 730.

33. Zhang, L.; Liu, S.; Xie, S.; Xu, L. *Micropor Mesopor Mat*, **2012**, *147*, 117.

34. Silva, A. O. S.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, **2004**.

35. Araújo, A. S.; Silva, A. O. S.; Souza, M. J. B.; Coutinho, A. C. S. L. S.; Aquino, J. M. F. B.; Moura, J. A.; Pedrosa, A. M. G. *Adsorption*, **2005**, *11*, 159.

36. Caldeira, V. P. S.; Santos, A. G. D.; Pergher, S. B. C.; Costa, M. J. F.; Araujo, A. S. *Química Nova*, **2016**, *39*, 292.

37. Li, J.; Li, X.; Zhou, G.; Wang, W.; Wang, C.; Komarneni, S.; Wang, Y. *Appl Catal A-Gen*, **2014**, *470*, 115.

38. Ge, T.; Hua, Z.; He, X.; Zhu, Y.; Ren, W.; Chen, L.; Zhang, L.; Chen, H.; Lin, C.; Yao, H.; Shi, J. *Chinese J Catal*, **2015**, *36*, 866.

39. Thommes, M.; Kaneko, K.; Neimark, A. V.; Olivier, J. P.; Rodriguez-Reinoso, F.; Rouquerol, J.; Sing, K. S. W. *Pure Appl Chem,* **2015**, *87*, 1051.

40. Sprynskyy, M.; Buszewski, B.; Terzyk, A. P.; Namiesnik, J. *J Colloid Interf Sci*, **2006**, *304*, 21.

41. Castaldi, P.; Santona, L.; Enzo, S.; Melis, P. *J Hazard Mater*, **2008**, *156*, 428.

42. Amuda, O. S.; Giwa, A. A.; Bello, I. A. Biochemical Engineering Journal 2007, 36, 174.

43. Hui, K. S.; Chao, C. Y. H.; Kot, S. C. *J Hazard Mater*, **2005**, *127*, 89.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

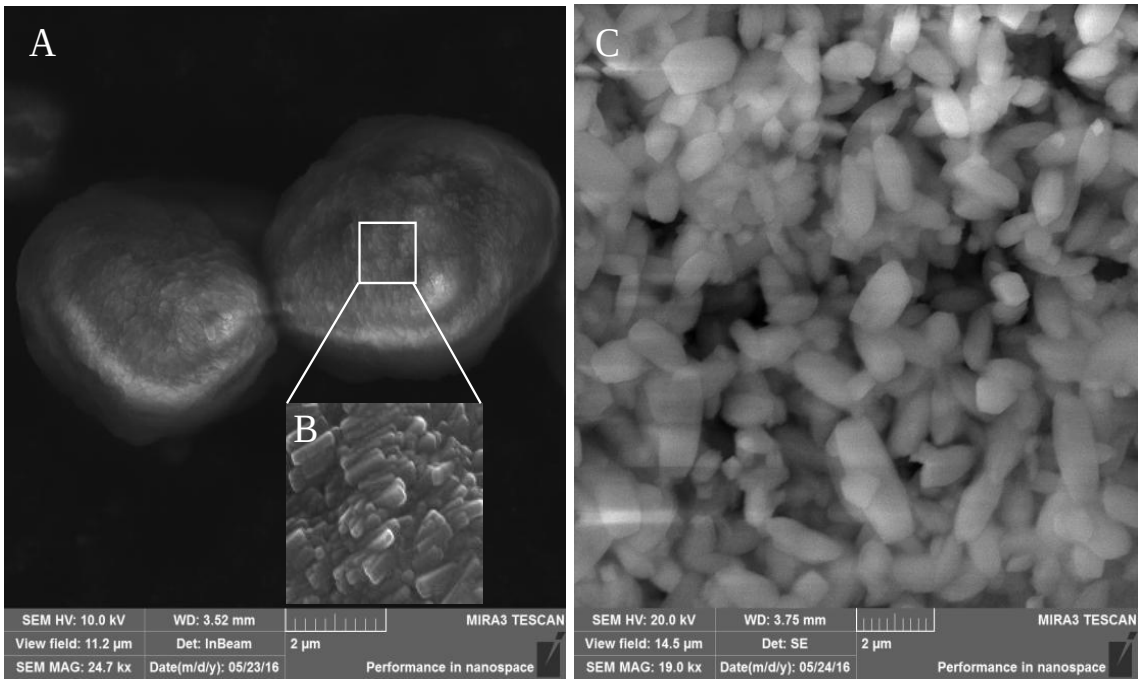


Figura 4. *Micrografia das zeólitas A) ZSM-5 com escala de 2 µm, B) ZSM-5 com escala de 500 nm e C) ZSM-12 com escala de 2 µm*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

REMOÇÃO DE CAFEÍNA POR CARVÃO ATIVADO DE BORRA DE CAFÉ COM ATIVAÇÃO ALTERNATIVA EM CÁPSULAS DE ALUMÍNIO

CAFFEINE REMOVAL BY ACTIVATED CARBON FROM COFFEE GROUNDS WITH ALTERNATIVE ACTIVATION IN ALUMINUM CAPSULES

CARVALHO, Endrew Henrique de Sousa[1*]; CUBA, Renata Medici Frayne [2]; TERAN, Francisco Javier Cuba[3];

[1,2] Universidade Federal de Goiás, Escola de Engenharia Civil e Ambiental, Programa de Pós Graduação em Engenharia Ambiental e Sanitária. Av. Universitária, 1488, Q. 86, L. Área Setor Universitário cep 74605-220, Goiânia – GO, Brasil
(fone: + 55 62 981687783)

** Autor correspondente*
e-mail: carvalhoendrew@gmail.com

Received 09 April 2018; received in revised form 27 June 2018; accepted 11 July 2018

RESUMO

O carvão ativado é usado como adsorvente na remoção de poluentes gasosos e líquidos além de purificação e recuperação química. No entanto, a sua produção tem um alto custo sendo pesquisados materiais precursores alternativos, como a borra de café. O objetivo deste estudo foi determinar a remoção de cafeína em solução aquosa por adsorção utilizando carvão ativado produzido a partir de borra de café. A borra de café foi impregnada com $ZnCl_2$ e ativada em cápsulas de alumínio, onde foi usado algodão com álcool e colocado fogo para consumir o oxigênio interno. Os ensaios ocorreram em pH básico, neutro e ácido. A concentração de cafeína estudada foi de 25 mg / L, 0,5 g de carvão ativado em amostras de 100 mL, deixando a suspensão sob agitação por 120 minutos em pH ácido, neutro e básico. A faixa de pH que obteve melhor remoção foi a neutra, removendo 99,04% de cafeína em 40 minutos. O teste cinético foi realizado em 20 minutos, tendo o melhor ajuste com o modelo intraparticula.

Palavras-chave: *Adsorção, Resíduo agroindustrial, Poluente*

ABSTRACT

Activated carbon is used like adsorbent in removing gaseous and liquid pollutants besides purification and chemical recovery. However, its production has a high cost and has sought alternative precursors materials such as coffee grounds. The objective of this study was to determine the removal of caffeine in aqueous solution using activated carbon produced from coffee grounds by adsorption. The coffee grounds was impregnated with $ZnCl_2$ and activated in aluminum capsules where it was used alcohol cotton and put fire to consume the oxygen inside. The adsorption test was performed with concentration of caffeine of 25 mg/L, 0.5 g of activated carbon in 100 mL samples, leaving the suspension under stirring for 120 minutes, in acid, neutral and basic pH. The pH range which obtained better removal was the neutral, removing 99.04% caffeine in 40 minutes. The kinetic test was performed in 20 minutes with the intraparticle model being the best fit.

Keywords: *Adsorption, Agroindustrial residue, Pollutant*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

A cafeína é um dos compostos psicoativos mais consumidos no planeta. Além disso, apresenta características químicas como estabilidade molecular, solubilidade em água e pouca volatilidade. Tais características contribuem para presença desse composto em efluentes, sendo os tratamentos convencionais não suficientes para a sua remoção (BARONE; ROBERTS, 1984). Cerca de 0,5 a 10% da cafeína consumida é excretada sem ser metabolizada (FERREIRA, 2005).

A cafeína vem sendo estudada como indicador químico de contaminação antrópica em águas superficiais e subterrâneas. Kurissery *et al*. (2012) avaliram a contaminação de cafeína em um lago no Canadá correlacionando com a presença de coliformes termotolerantes, concluindo que a cafeína, juntamente com os indicadores bacterianos, poderia ajudar a rastrear a origem dos contaminantes em águas superficiais.

Daneshvar *et al*. (2012) avaliaram a utilização de cafeína e outros compostos farmacêuticos como indicadores de contaminação em fontes de água potável, concluindo que a razão entre as concentrações de cafeína e carbamazepina pode ser usada como indicador da proporção de águas residuais despejadas em águas superficiais.

Ferreira (2005) em seu estudo apresentou que há uma relação entre a concentração de cafeína e a concentração de amônia, fosfato e coliformes termotolerantes em bacia hidrográfica no Brasil, concluindo que se a cafeína é detectada na água, agentes patogênicos, compostos farmacêuticos biologicamente ativos e produtos de higiene pessoal certamente estarão presentes.

Os estudos relacionados à ecotoxicidade da cafeína são poucos. Pires *et al*. (2016) obtiveram resultados que mostraram um retardamento na capacidade de regeneração de Diopatras *neapolitanas*, espécie de anelídeo marinho, após a exposição, indicando impactos potencias dessas substâncias nos indivíduos estudados ao passo que Cruz *et al.* (2015) avaliaram o estresse oxidativo ocasionado no molusco comestível de água salgada, o Ruditapes *philippinarum*, onde os resultados indicaram que a exposição aguda ocasionou um dano celular e a ativação de defesas antioxidantes nos organismos.

Diante do exposto, o uso de tecnologias mais efetivas no tratamento de efluentes desponta como um fator importante para conservação dos recursos hídricos. A adsorção em carvão ativado é um dos métodos que vem apresentando elevada eficiência na remoção de poluentes emergentes. O carvão ativado é um material de carbono com porosidade desenvolvida que é preparado por dois métodos, basicamente (RODRÍGUEZ-REINOSO; MOLINA-SABIO, 1992). O primeiro é a ativação física, processo em que a matéria-prima é carbonizada sob atmosfera inerte (gás nitrogênio) e o carvão resultante é ativado a alta temperatura por vapor ou dióxido de carbono. A ativação química é o outro método, em que a matéria-prima é misturada com um reagente de ativação e aquecida em atmosfera inerte (RAI, 2015).

Associar a adsorção com um uso de matéria prima renovável é outro fator importante na questão ambiental. Estudos estão sendo desenvolvidos utilizando esse tipo de material para preparação de carvão ativado, e a borra de café vem demonstrando grande potencial para esse fim (BOONAMNUAYVITAYA *et al.*, 2005; BOUCHENAFA-SAÏB *et al*., 2014)

Esse trabalho teve como objetivo propor uma ativação alternativa de baixo custo sem o uso da atmosfera inerte comumente utilizada, buscando avaliar o potencial do carvão produzido.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Preparo da borra de café

A metodologia proposta nesse trabalho foi baseada em produções cientificas que usaram a borra de café como matéria prima (BOONAMNUAYVITAYA *et al*.,2005; OLIVEIRA *et al*., 2005; KHENNICHE; BENISSAD-AISSANI, 2010).

No preparado do carvão foram utilizados cerca de 10 gramas da borra de café, sendo impregnada com cloreto de zinco anidro PA ($ZnCl_2$) na proporção de 1:1. Foi preparada uma solução de cloreto de zinco de 10 g para 100 mL de água ultrapurificada. A borra de café foi adicionada a solução e a suspensão submetida à agitação mecânica e aquecida por 2 h a 110°C, até a secagem do material para impregnação do $ZnCl_2$, e ficou em estufa (Marca Nova Ética) por

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

24h a 110°C para secagem total.

2.2 Processo de ativação em forno mufla

O procedimento de ativação iniciou com a disposição da mesma em cápsula de alumínio. Em sua lateral, foi colocado um algodão embebido por álcool, colocando fogo no mesmo e tampando com outra cápsula de alumínio para consumir o oxigênio interno. Essas cápsulas foram envolvidas por arame de ferro que, por ter o ponto de fusão superior ao do alumínio, manteve as capsulas unidas como apresentado na Figura 1. Em seguida, levou-se o material ao forno mufla (Marca Bravac) a 500°C por 2h.



Figura 1. *Capsulas e disposição no forno mufla usados na ativação*

Após ativação, o carvão foi lavado com água ultrapura sob agitação durante 1h mantendo-se uma temperatura de 80°C, e por sucessivas lavagens com água ultrapura a temperatura ambiente (20°C), até que o pH ficasse próximo da neutralidade. O carvão foi mantido em estufa a 110°C por 24h para secagem.

2.2 Ensaios de adsorção

Os ensaios para verificar a qualidade adsortiva do carvão foram realizados em três faixas de pH: neutra (7,3), básica (11,6) e ácida (2,6), ajustados com soluções de NaOH (1 N) e HCl (1 N), obtendo assim a melhor faixa de pH para adsorção em 120 min com tomadas de amostra a cada 20 min. A proporção foi de 0,5 g de carvão ativado para 100 mL de solução de cafeína (Cafeína anidra PA) a 25 mg/L. A análise foi feita utilizando espectrofotômetro UV DR 6000 Hach, cubetas de quartzo, no comprimento de onda de 272 nm (BHAWANI *et al.*, 2015). A remoção da cafeína foi analisada através da diferença entre a concentração da solução inicial e a concentração da solução final.

A quantidade de cafeína adsorvida (qt) foi calculada segundo a Equação 1 onde (KHENNICHE; BENISSAD-AISSANI, 2010):

$$qt = \frac{V\,(C_0 - C_f)}{m} \qquad \text{(Eq. 1)}$$

qt: Quantidade de cafeína adsorvida (mg)
V: Volume da solução (L)
C_0 : Concentração inicial da solução (mg/L)
C_f : Concentração final da solução após a adsorção (mg/L)
m: massa de carvão utilizada (g)

2.2 Estudo cinético

De acordo com o comportamento observado pelo primeiro ensaio, foi escolhido o pH com maior quantidade adsorvida no carvão, e realizou-se um novo ensaio de cinética de adsorção verificando qual o comportamento cinético observado de acordo com o coeficiente linear obtido segundo os gráficos de cada modelo (Tabela 1), onde qe é a massa adsorvida no carvão no equilíbrio em mg/g, o qt a massa adsorvida no carvão em determinado tempo em mg/g, e o t o tempo em minutos.

Tabela 1. *Modelos utilizados na cinética de adsorção*

Modelo	Gráfico	Referência
Pseudo-primeira Ordem	ln(qe-qt) x t	Berthou e Lagergren, (1998)
Pseudo-segunda Ordem	t/qt x t	Ho et al (1996)
Intra-particula	qt x $t^{1/2}$	Webber e Morris (1963)

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

O pH 7,3 foi o que obteve os melhores resultados de adsorção, sendo que em 10 minutos indicou remoção total com a massa de 0,5 g de carvão ativado. A Figura 2, apresenta o comportamento de adsorção em diferentes pH no tempo total de 35 minutos, com 25 mg/L de cafeína e 0,5 gramas de carvão ativado. O pH neutro adsorveu cerca de 4,952 mg de cafeína por grama de carvão, seguido pela faixa básica, que ficou próxima (4,87 mg/g), e a ácida (4,882

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

mg/g).

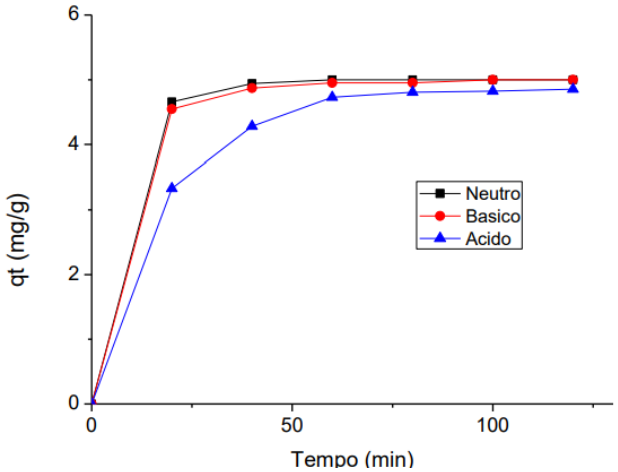


Figura 2. *Comportamento adsortivo da cafeína (25 mg/L) em 0,5 gramas de carvão ativado.*

Como o ensaio com 0,5 gramas de carvão apresentou remoção próxima aos 100% da cafeína em 40 minutos para o pH na faixa neutra e básica, realizou-se um novo ensaio com 0,1 gramas de carvão com 25 mg/L de cafeína em solução em pH neutro nas mesmas condições de tempo e amostragem do primeiro ensaio, com objetivo de obter dados de adsorção mais estreitos em termos de tempo e verificar, pelos modelos cinéticos, qual o comportamento adsortivo desse carvão.

A aplicabilidade dos modelos cinéticos é feita com a análise gráfica, com o coeficiente de correlação linear (R^2), que deve ser um valor próximo a 1 para que o ajuste dos dados para determinado modelo cinético seja satisfatório. O apresenta o R^2 obtivo pelos gráficos de cada modelo (Tabela 2) indicam a cinética de adsorção que mais se ajustou foi a do modelo intra-particula. Alguns modelos consideram que a cinética de adsorção seja principalmente controlada pela difusão externa como o modelo de pseudo-primeira ordem e o modelo de pseudo-segunda ordem, em que assumem que a resistência à transferência de massa ocorre na camada de difusão próxima à superfície adsorvente. Já no modelo intra-particula, considera que a difusão intrapartícula é um fator limitante para a transferência de massa. No modelo proposto, a taxa de agitação é considerada suficientemente alta de modo que transferência de massa intrapartícula limita a difusão (SILVEIRA NETA *et al.*, 2012).

Tabela 2. *Coeficiente linear (R^2) para cada modelo cinético.*

Modelo	R^2
Pseudo-primeira Ordem	0,9465
Pseudo-segunda Ordem	0,9164
Intra-particula	0,9910

François *et al.* (2016) utilizaram carvão ativado comercial para avaliação de remoção de cafeína em pH 6, 0,5 g de carvão, com tempo de residência e a concentração de cafeína mais adequadas de 50 minutos e 10 mg de cafeína/L, obtendo, nestas condições, a remoção média de 99,2%. Nesse trabalho obteve-se remoção de 99,04% da cafeína a 25 mg/L em 40 minutos, com a mesma massa e pH 7, demonstrando a eficiência da matriz e da ativação para remoção de cafeína que removeu maior massa em menor tempo, comparada ao carvão comercial.

CONCLUSÕES:

Com os resultados obtidos pode-se verificar a eficiência da remoção de cafeína com o carvão produzido a partir da borra de café por meio de ativação química feita em capsulas de alumínio. A atmosfera inerte usualmente utilizada nas ativações atribui um valor elevado ao processo, e esse trabalho apresentou uma alternativa de baixo custo, com bons resultados.

Recomenda-se à trabalhos futuros, a caracterização do carvão ativado por esse método com o ativado em atmosfera inerte, objetivando a comparação mais aprofundada em termos de estrutura e qualidade do carvão ativado produzido.

AGRADECIMENTOS:

Os autores agradecem ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental e Sanitária (PPGEAS-UFG) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG) pelo apoio à pesquisa.

REFERÊNCIAS:

1. Barone, J. J., Roberts, H. Human consumption of caffeine. In Caffeine, ed Dews, P.B. Springer-Verlag: New York, 1984.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

2. Berthou, F .; Lagergren, *S. Handlingar Band.* **1998**, 24, 39.

3. Bhawani, S.A.; Fong, S. S.; Nasir. M, Ibrahim, M. *J Anal. Methods Chem.* **2015**, 170239, 2015.

4. Boonamnuayvitaya, V., Sae-ung, S., Tanthapanichakoon, W. *Sep Purif Technol*, **2005**, 42, 59.

5. Bouchenafa-Saïb, N., Mekarziab, A., Bouzidc, B., Mohammedia, O., Khelifac, A., Benrachedid, K., Belhaneche, N. *Desalin. Water treat.* **2014**, 52, 4920.

6. Cruz, J.R., Almeida, V., Calisto, R.J., Schneider, V.I., Esteves, E., Figueira, A.M.V.M. *Toxicol. Lett*., **2015**, 238, 136.

7. Daneshvar A., Aboulfad, K., Viglino L., Broséus R., Sauvé S, Madoux-Humery A.S, Weyhenmeyer G.A, Prévost M. *Chemosphere*, **2012**, 88, 181.

8. Ferreira, A. P. *Cad. Saúde Pública*, **2005**, 6,1884.

9. François, L.L; Haro, N.K; Souza, F.S.; Féris, L. A., Remoção de cafeína por adsorção em carvão ativado. FIEMACON, Bento Gonçalves, Brasil, 2016.

10. Ho, Y. S; Wase, D. A. J., Forster, C. F., *Environ.Technol*.**1996,** 17, 71.

11. Khenniche, L. Benissad-Aissani, F. J. Chem. Eng. Data, **2010***, 55, 4677.*

12. Kurisserya, S., Kanavillil, N., Verenitchb,S., Mazumder, A. *Ecol. Indic.*, **2012**, 23, 501.

13. Oliveira L,C, Pereira E, Guimaraes I.R, Vallone A, Pereira M, Mesquita J.P, Sapag K. *J Hazard Mater***, 2005***, 185, 97.*

14. Pires, A.; Almeida, A.; Correia, J.; Calisto, V.; Schneider, R. J.; Esteves, V.I; Soares, A.M.V.M.; Figueira, E.; Freitas, R. *Chemosphere*, **2016**, 146, 565.

15. Rai, M. K. Shahi, G., Meena, V. Meena, R. Chakraborty, S. Rai, B. N. Singh, R. S. Preparation and characterization of activated carbon from mango seed kernel for heavy metal removal from aqueous solution. CHEMCON, Guwahati, India 2015.

16. Rodríguez-Reinoso, F.; Molina-Sabio, M. *Carbon*, **1992**, 30, 1111.

17. Silveira Neta, J. J., Silva, C. J., Moreira, G. C., Reis, C., Reis, E. L. *Rev. Ambient. Água,* **2012**, 7,104.

18. Weber, W. J., Morris, J. C., *J. Sanit. Eng.* **1963**, 89, 31.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

APLICAÇÃO DO PROCESSO DE ELETROCOAGULAÇÃO/FLOTAÇÃO PARA REUSO DE ÁGUA PLUVIAL

APPLICATION OF ELETROCOAGULATION / FLOTATION PROCESS FOR RAINWATER REUSE

CARVALHO, Endrew Henrique de Sousa[1*]; CUBA, Renata Medici Frayne [2]; Carvalho, Ricardo Valadão de [3]; MARRA, Enes Gonçalves [4]

[1,2,3,4] Universidade Federal de Goiás, Escola de Engenharia Civil e Ambiental,e Escola de Engenharia Elétrica Programa de Pós Graduação em Engenharia Ambiental e Sanitária Av. Universitária, 1488, Q. 86, L. Área Setor Universitário cep 74605-220, Goiânia – GO, Brasil
(fone: + 55 62 3209-6267)

** Autor correspondente*
e-mail: carvalhoendrew@gmail.com

Received 09 April 2018; received in revised form 27 June 2018; accepted 11 July 2018

RESUMO

A eletrocoagulação de matrizes aquosas vem ganhando considerável atenção devido a versatilidade e bons resultados obtidos. Avaliou-se a tratabilidade de água de chuva por meio da eletrocoagulação/flotação em reator cilíndrico com eletrodos de alumínio. O procedimento experimental foi conduzido em reator em escala-piloto, operado em fluxo contínuo com tempo de detenção hidráulica de 100 segundos e densidade de corrente de 12,3 mA/cm^2. O reator foi construído com tubo de acrílico nas dimensões de 8 cm de diâmetro e 60 cm de altura, sendo os eletrodos feitos com tubo de alumínio com 15 cm de altura. Para avaliar o grau de tratabilidade da água de chuva foram realizadas análises de pH, turbidez, cor, cloretos, sílica, dureza, alcalinidade, condutividade, sólidos suspensos e dissolvidos e demanda química de oxigênio. Os resultados foram comparados ABNT NBR 15527, a Portaria 2914 e a norma da ASME para água de caldeiras, sendo que com exceção do parâmetro dureza, os demais atenderam as normas. Tais resultados mostraram o custo benefício da eletrocoagulação/flotação, que apresentou o gasto de R$ 0,30 por metro cúbico de água tratada.

Palavras-chave: *Tratamento eletroquímico, Água com baixa condutividade, Reuso*

ABSTRACT

The electrocoagulation of aqueous matrices has been gaining considerable attention because of the versatility and good results obtained. The treatability of rainwater was evaluated by means of electrocoagulation/flotation in cylindrical reactor with aluminium electrodes. The experimental procedure was conducted in pilot-scale reactor, operated in continuous flow with hydraulic detention time of 100 seconds and 12.3 current density mA/cm^2. The reactor was built with acrylic tube on the dimensions of 8 cm in diameter and 60 cm in height, being the electrodes made with aluminum tube with 15 cm high. To assess the degree of treatability of rainwater were carried out analyses of pH, turbidity, color, chlorides, silica, hardness, alkalinity, conductivity, suspended solids and dissolved and chemical oxygen demand. The results were compared ABNT NBR 15527, Portaria 2914 and the ASME standard for boiler water, being that with the exception of the hardness, the other answered. These results showed the cost benefit of electrocoagulation/flotation, which showed spending U$ 1.12 per cubic meter of treated water.

Keywords: *Electrochemical treatment, Water with low conductivity, Reuse*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

O Brasil é o país com a maior reserva de água doce do mundo, e esse dado remete a ideia de abundância que vem sendo levada de forma irresponsável em relação a conservação dos recursos hídricos. Essa reserva, além de não ser uniforme, localizando-se majoritariamente na região amazônica, é influenciada pelo regime de chuvas. A região Nordeste, tradicionalmente enfrenta um regime seca, e de forma eventual, outras regiões são afetadas, como o Sudeste que em 2014 enfrentou uma grave crise hídrica, como discutido por Martins (2014), servindo de alerta a falta de gestão relacionada ao planejamento e desperdício de água no estado de São Paulo.

A água pluvial é uma fonte de água que se gerenciada e tratada de forma adequada, seria uma reserva importante para as épocas de estiagem e preservação dos corpos hídricos e subterrâneos. No Japão o aproveitamento de águas pluviais é incentivada desde a década de 90 (JFS, 2018). Já no Brasil, a legislação relacionada ao reuso de água, principalmente pluvial, ainda é muito limitada. Em 2017 foi incluída a Lei Nº 13.501 (BRASIL, 2017), de 30 de outubro de 2017, na Política Nacional de Recursos Hídricos que preconiza o incentivo captação, preservação e o aproveitamento de águas pluviais. Entretanto, a única norma brasileira que estabelece padrões de qualidade é a ABNT NBR 15527, para fins não potáveis.

A adequação da qualidade da água para um determinado fim demanda a aplicação de tecnologias eficientes que atendam os parâmetros preconizados por cada legislação. A eletrocoagulação/flotação (ECF) é uma tecnologia não convencional de tratamento, que vem recebendo destaque devido à sua eficiência e versatilidade em uma gama variada de matrizes aquosas (GARCIA-SEGURA *et al*., 2017; KOBYA *et al*., 2011; NAJE; ABBAS, 2015).

A ECF é um método que associa três tecnologias, a flotação, coagulação e eletroquímica. Faz uso de no mínimo um par de eletrodos, constituídos por chapas metálicas, em geral de alumínio ou ferro, sendo conectados em uma fonte elétrica. A passagem de corrente elétrica promove a corrosão do eletrodo (ânodo), seguido da formação de hidróxidos metálicos que promovem a coagulação eletrolítica seguida da flotação realizada pela formação de bolhas de hidrogênio e oxigênio, geradas no processo (MOUSSA *et al*., 2017). Segundo Kobya *et al*. (2006) as principais reações eletroquímicas são a liberação do cátion metálico do ânodo na solução, representado pela Equação 1, e da evolução do gás hidrogênio no cátodo, representado pela Equação 2.

$$Al \Rightarrow Al^{3+} + 3e^{-} \quad \text{(Eq.1)}$$

$$3\ H_2O + 3e\text{-} \Rightarrow (3/2)\ H_2 + 3\ OH^{-} \quad \text{(Eq.2)}$$

Os estudos que abordam a utilização da da ECF aplicada a água bruta ou pluvial é limitado, em grande parte devido a condutividade elétrica baixa dessas matrizes, o que pode conferir a um maior gasto energético, pela tensão elétrica demandada ser maior (MOHORA *et al*, 2012; ULU *et al*., 2015). Porém, os reatores utilizados nessa tecnologias estão apresentando designers compactos, com geometria dos eletrodos otimizada de forma que a resistência elétrica da solução minimiza os efeitos da baixa condutividade (GARCIA-SEGURA *et al*., 2017).

Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivo verificar a eficiência no tratamento de água pluvial com um modelo de reator vertical com eletrodos em tubos cilíndricos proposto, comparando a qualidade do tratamento com a ABNT NBR 15527 (ABNT, 2002), Portaria 2914 (BRASIL, 2011) e ASME apresentado por Frayne (2002).

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Concepção do Reator

O reator de eletrocoagulação foi feito em tubo de acrílico de 80 mm de diâmetro com 60 cm de altura, onde foi fixado em uma mesa metálica quadrada de 30 cm de aresta, com 50 cm de altura. Os eletrodos usados foram tubos de alumínio de 1" e 1,5" de diâmetro por 15 cm de comprimento, sendo os mesmos dispostos em um adaptador com flanges e cap de pvc de 50".

A Figura 1 apresenta uma imagem do reator com uma ilustração do corte transversal da estrutura do eletrodo conforme indicado pela seta, em que o afluente é injetado em um tubo, que leva a água para uma câmara interna, dentro do cap de pvc. Dessa câmara a água passa pelos eletrodos, sendo o ânodo o cilindro interno e o cátodo o cilindro de alumínio externo direcionando a água para o tubo de acrílico. Os eletrodos são conectados por fios de alumínio ligados em dois pinos também de alumínio, que possuem contato com o lado externo do reator,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

onde são ligados a fonte elétrica de alimentação. A parte interna do ânodo é vedada, de forma que não há entrada de água.

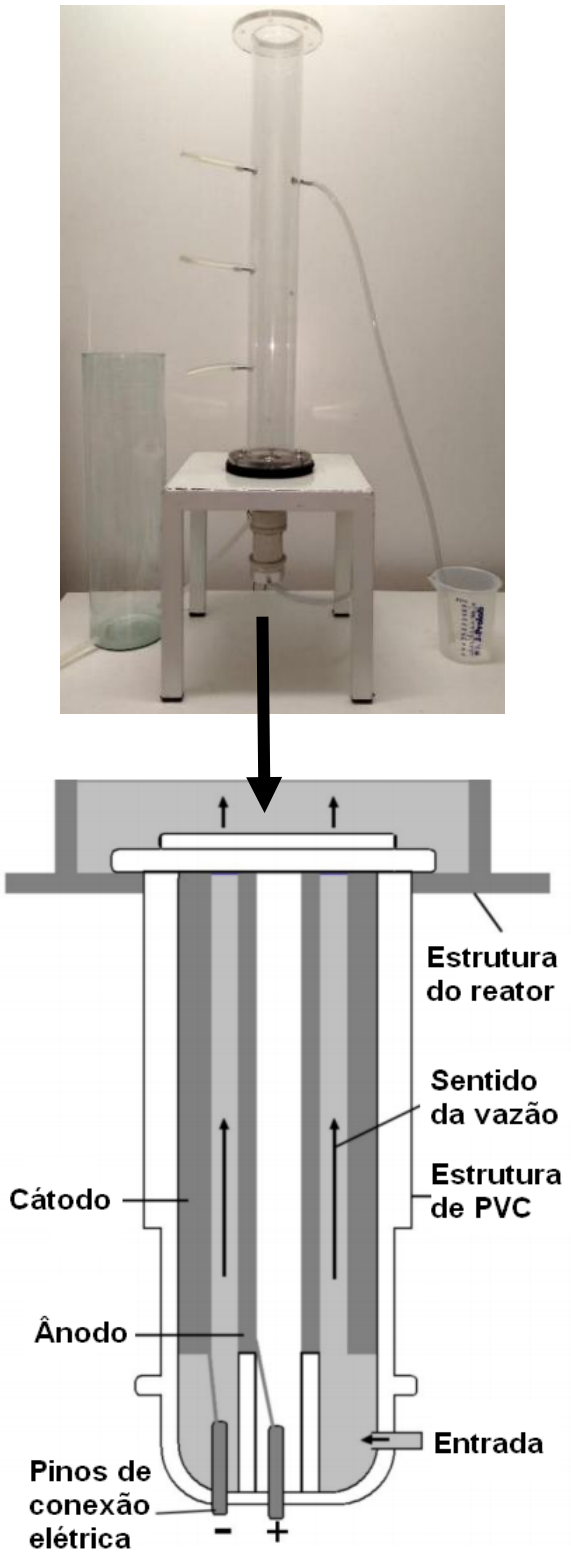


Figura 1. *Imagem do reator seguido pelo recorte transversal da estrutura do eletrodo.*

2.2 Procedimento experimental

O procedimento experimental foi conduzido em escala-piloto em fluxo contínuo com tempo de detenção hidráulica de 100 segundos, operando com a densidade de corrente de 12,3 mA/cm^2, sendo os eletrodos ligados a uma fonte de tensão da marca Minipa modelo MPL-3305. Foi utilizada uma bomba centrífuga da marca GM 12 V com vazão de 0,0198 L/s, controlada por uma fonte de tensão da marca Minipa modelo MPL-3305 onde a mesma teve o intuito de promover a equalização da vazão de entrada e saída do reator. O fluxo de escoamento adotado foi ascendente, de modo a promover a flotação de poluentes por meio do arraste garantido pelo fluxo de escoamento e da formação de microbolhas no eletrodo.

A água usada no tratamento foi obtida durante uma precipitação na cidade de Goiânia no mês de abril, época que se inicia o período de estiagem como apresentado no relatório climático de Farias (2017), sendo a mesma coletada por uma calha que a direcionava a um reservatório. O afluente foi condicionado em um tubo de vidro com volume de 13 litros, sendo ligado a bomba centrifuga que injetava a água pelo cap de pvc, direcionando para os eletrodos.

2.2 Avaliação do tratamento

A coleta da água tratada foi realizada em triplicata, nos tempos de 2, 4 e 6 minutos de tratamento.

Os parâmetros físico-químicos avaliados para verificar a qualidade da água pluvial foram o pH, demanda química de oxigênio (DQO) turbidez, cor aparente, sólidos suspensos, sólidos dissolvidos, dureza, sílica, alcalinidade, condutividade e cloretos seguindo as metodologias presentes em APHA (2012). Os resultados foram comparados com a norma ABNT NBR 15527 (ABNT, 2002), Portaria 2914 (BRASIL, 2011) e ASME apresentado por Frayne (2002).

2.2 Consumo de energia

O consumo de energia está relacionado com a intensidade de corrente utilizada, condutividade do efluente, espaçamento e passivação dos eletrodos. De acordo com Kobya *et al.* (2006), o consumo de energia em um reator batelada pode ser calculado utilizando-se a

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

equação 3 adaptada.

$$C = \frac{U.\ i.\ t}{1000.v} \qquad \text{(Eq. 3)}$$

Sendo C o consumo de energia (em KWh), U a tensão elétrica aplicada ao processo em Volts (V), i a corrente elétrica aplicada (em A), t o tempo de aplicação da corrente ou tempo de processo (h), e o v o volume tratado em m^3.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Os parâmetros físico-químicos cloretos, condutividade, alcalinidade, sólidos dissolvidos e sílica não apresentaram variação significativa em termos de concentração comparando a amostra bruta com as tratadas (Tabela 1). A condutividade é um parâmetro importante no tratamento eletrolítico pois segundo Danesvhar, Oladegaragoze e Djafarzadeh (2006) está diretamente relacionada a eficiência da corrente, tensão da célula e o consumo de energia elétrica, recomendando assim o uso de cloreto de sódio (NaCl) para elevar esse parâmetro. Nesse trabalho testou-se o tratamento sem a adição de NaCl com o intuito de manter as características naturais da água. A condutividade da água pluvial foi de 39,3 µS/cm, bem a baixo das condutividades usadas em outros trabalhos, que estão acima de 1000 µS/cm (HAKIZIMANA, 2015; HASHIM *et al*, 2017; HASHIM, SHAW; PHIPPS, 2017) que trabalharam com água para consumo.

Observando os demais parâmetros, como a demanda química de oxigênio, turbidez, cor aparente e sólidos suspensos (Tabela 1) constatou-se que a baixa condutividade não foi empecilho pois obteve-se bons resultados, principalmente na remoção de matéria orgânica (DQO) e sólidos suspensos, que atingiram 74,44% e 100%, respectivamente.

O tratamento apresentou remoção de 9,93% de dureza, que pode ser considera baixa quando comparado com trabalhos como de Zhao *et al.* (2014), que obtiveram 85,81%. Segundo Hakizimana *et al*.(2015), a literatura indica que a ECF é eficiente para remoção de dureza, e o que pode ser identificado como contraponto para avaliação da remoção desse parâmetro é que o tempo de tratamento foi de 30 minutos para o trabalho de Zhao, bem superior aos 2 minutos avaliados neste, e como a densidade de corrente foi inferior (5.90 mA/cm^2) a que foi utilizada neste trabalho (12,3 mA/cm^2), o tempo pode ser considerado o principal fator.

Para fazer uma comparação entre os resultados obtidos com a caracterização da água pluvial bruta e tratada (6 min), foram comparados os resultados (Tabela 2) com a norma ABNT NBR 15527, a Portaria 2914, e os padrões gerais estipulados pela ASME apresentados por Frayne (2002), indicando se atende os valores preconizados.

A água pluvial tradada atendeu praticamente as três normas, com exceção do parâmetro dureza para a ASME. Recomenda-se um tempo maior de tratamento se o reuso da água for destinado à caldeiras, com intuito de corrigir esse parâmetro. Em relação a Portaria 2914, os parâmetros analisados atenderam a norma, porém, como não foram avaliados os parâmetros microbiológicos a mesma foi citada apenas a título de comparação, não sendo recomendado o uso para fins potáveis, a não ser que todos os parâmetros contidos na Portaria sejam avaliados. O tratamento atendeu a norma ABNT NBR 15527 que trata do reuso da água de chuva para fins não potáveis.

O gasto de energia elétrica foi calculado de acordo com a equação 3 onde observe-se 0,757 kWh/m^3 gastos, e considerando o kWh para indústria de R$ 0,42 (CELG, 2017) o gasto foi de R$ 0,30. Utilizando a mesma equação para calcular o gasto da bomba centrifuga retirando a variável volume, obteve-se 1,51 kWh/m^3, contabilizando R$ 0,63. O gasto total do processo foi de R$ 0,93, devendo destacar que a eletrocoagulação gastou a metade da energia elétrica que a bomba centrífuga usou, dispositivo este que está presente na grande maioria das estações de tratamento de água e esgoto.

CONCLUSÕES:

A verticalização de reatores de tratamento é uma alternativa econômica e ambiental que deve ser estudada e considerada, pois incentiva as empresas a fazerem sua obrigação ambiental, de forma a não ocupar grandes áreas, mantendo a relação custo benefício balanceada com a responsabilidade ambiental.

A eletrocoagulação/flotação é uma tecnologia que devido ao uso de energia elétrica não é considerado como escolha viável como opção de método de tratamento. Mas como foi observado nesse trabalho, apresenta boa eficiência, e baixo gasto energético, quando

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

comparado a um equipamento comum em estações de tratamento, como as bombas centrifugas.

AGRADECIMENTOS:

Os autores agradecem ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental e Sanitária (PPGEAS-UFG) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG) pelo apoio à pesquisa.

REFERÊNCIAS:

1. ABNT. NBR 15527: Água de chuva- Aproveitamento decoberturas em áreas urbanas para fins não potáveis- Requisitos. Rio de Janeiro, 2002. p. 24.

2. APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22, Washington, 2012.

3. BRASIL. Lei Nº 13.501, de 30 de outubro de 2017.

4. BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 2914/MS de 2011.

5. CELG. https: // www .celg. com. br/ arquivos, Acessada Julho de 2017.

6. Comninellis, C., Chen, G. *Springer*, **2010**, 145.

7. Daneshvar, N., Oladegaragozeb, A., Djafarzadeh. N., *J. Hazard. Mater.* **2006**, B129, 116.

8. Farias S. Análise Climática Para Goiânia– Outono De 2017. CLIMAGEO – IESA/UFG, 2017.

9. Frayne, C. Boiler Water Treatment Principles and Practice. Chemical Publishing Co. Inc.: New York, 2002.

10. Garci-Segura, S., Eiband, M.M.S.G., De Melo, J. V., Martínez-Huitle, C.A. *J. Electroanal. Chem*. **2017**, 801, 267.

11. Hakizimana, J. N., Gourich, B., Chaf, M., Stiriba, Y., Vial, C., Drogui, P., Naja, J. *Desalination*, **2017**, 404, 1.

12. Hashim, K. S.; Shaw, A.; Al Khaddar, R.; Pedrola, M. O.; Phipps, D. J Environ Manage.**2017**, 189, 98.

13. Hashim, K. S.; Shaw, A.; Al Khaddar, R.; Phipps, D. J. Environ Manage, **2017**, 187, 80.

14. JFS. https : //www. japanfs. org/ en/ news/ archives /news_ id02 7756.html.Acessada Março de 2018.

15. Kobya, M.; Hiz, H.; Senturk, E.; Aydiner, C. Demirbas, E. Desalination, **2006**, 190, 201.

16. Kobyaa, M., Ulua, U., Gebologlua, U., Demirbasb, E., Oncel, M.S. *Sep. Purif. Technol.* **2011**, 77, 283.

17. Martins,P. Department for International Development, **2014**, 19.

18. Mohora, E., Roncevic, S., Dalmacija, B. Agbaba, J., Watson,M, Karlovic, E. Dalmacija, M. *J. Hazard. Mater.,* **2012**, 235, 257.

19. Mollah M.Y.; Morkovsky, P.; Gomes, J.A.; Kesmez, M.; Parga, J.; Cocke, D.L., J. Hazard. Mater. **2004**, 114, 199.

20. Moussa, D.T., El-Naas, M.H. Nasser, M. Al-Marri, M.J. J Environ Manage. ,**2017**, 1.

21. Naje, A.S., Abbas, S. A., *J. Civil Environ. Eng.* **2013**, 3,11.

22. Ulu, F.; Barısçıa, S.; Kobyaa, M.; Sillanpää, M. Chemosphere (2015), doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.11.063.

23. Zhao, S.; Huang, G. C.; Guanhui, W; Yafei; Fu, H. Desalination,**2014**,344,454.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 1. *Resultados dos parâmetros avaliados e a porcentagem de remoção média com o tratamento.*

PARÂMETROS	TEMPO DE TRATAMENTO (min)				PORCENTAGEM DE REMOÇÃO (%)
	0	2	4	6	
pH	7,8	8,1	8,2	8,3	-
Demanda Química de Oxigênio (mg/L)	45	11	12	11	74,4
Turbidez (NTU)	7,8	4,4	4,3	4,2	44,9
Cor aparente (mg/L)	16,7	9,8	9,5	9,6	42,3
Sólidos Suspensos (mg/L)	45	0	0	0	100
Sólidos Dissolvidos (mg/L)	18	18	18	18	1,48
Dureza (mg/L)	47	43	42	42	9,93
Sílica (mg/L)	0,3	0,2	0,2	0,2	33,3
Alcalinidade (mg/L)	22	22	22	22	0
Condutividade Elétrica(µS/cm)	39	39	39	39	0,42
Cloretos (mg/L)	3,5	3,5	3,5	3,5	0

Tabela 2. *Comparação dos parâmetros analisados entre as normas.*

PARÂMETROS	Resultados		ABNT NBR 15527	Atende?		Portaria 2914	Atende?		ASME	Atende?	
	Água bruta (B)	Água tratada (T)		(B)	(T)		(B)	(T)		(B)	(T)
pH	7,8	8,3	6,0 - 8,0	sim	não	6,0 - 9,5	sim	sim	8,3 - 10,5	não	sim
Demanda Química de Oxigênio (mg/L)	45	11	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Turbidez (NTU)	7,8	4,2	< 5	não	sim	< 5	não	sim	*	*	*
Cor aparente (mg/L)	16,7	9,6	< 15	não	sim	< 15	não	sim	*	*	*
Sólidos Suspensos (mg/L)	45	0	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Sólidos Dissolvidos (mg/L)	18	18	*	*	*	< 1000	sim	sim	< 300	sim	sim
Dureza (mg/L)	47	42	*	*	*	< 500	sim	sim	< 15	não	não
Sílica (mg/L)	0,3	0,2	*	*	*	*	*	*	< 150	sim	sim
Alcalinidade (mg/L)	22	22	*	*	*	*	*	*	< 450	sim	sim
Condutividade Elétrica(µS/cm)	39	39	*	*	*	*	*	*	< 3500	sim	sim
Cloretos (mg/L)	3,5	3,5	*	*	*	< 250	sim	sim	< 300	sim	sim

*Não preconizado
(B) Água bruta
(T) Água tratada

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

DETERMINAÇÃO DE HIDROCARBONETOS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS (PAHS) EM AMOSTRAS AQUOSAS POR EXTRAÇÃO LIQUIDA-LÍQUIDA DE HPLC-FLD

DETERMINATION OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS (PAHS) IN AQUEOUS SAMPLES BY HPLC-FLD WITH SALTING-OUT LIQUID-LIQUID EXTRACTION

ACOSTA, Byron[1]; CIPRIANI-AVILA, Isabel[2]*;

[1] LASA laboratory, Juan Ignacio Pareja Oe5-97, Simón Cardenas, ZIP code 170511, Quito - Pichincha (phone: +593 22269012)

[2] Chemistry School, Pontifical Catholic University of Ecuador, 12 de Octubre 1076 Avenue, ZIP code 170525, Quito-Ecuador (phone: +593 2 992792))

** Corresponding author*
e-mail: ecipriani111@puce.edu.ec

Received 16 April 2018; received in revised form 8 July 2018; accepted 25 July 2018

RESUMO

Os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) são um grupo de mais de 100 substâncias químicas, que contêm dois ou mais anéis aromáticos fundidos, a maioria deles tóxicos ou cancerígenos. Neste estudo, as condições de extração do Quechers foram adaptadas para realizar a extração de amostras aquosas.O método quechers tem-se tornado em uma técnica padrão para a análise de pesticidas e outras substâncias. O baixo custo e simplicidade deste método têm contribuído a sua popularidade em laboratórios no mundo inteiro para o processamento de amostras como as frutas e legumes. O sucesso deste método em amostras sólidas contrasta com os avanços na extração das amostras aquosas, onde etapas tediosas de extração, concentração e troca de solventes ainda devem ser realizadas antes da análise instrumental da amostra. Neste estudo, as condições de extração do método Quechers foram adaptadas para realizar a extração das amostras aquosas. Uma metodologia foi desenvolvida para a extração líquido-líquido (água / acetonitrila) de 15 hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) em matrizes aquosas. A mistura foi saturada com sulfato de sódio anidro para garantir a partição e analisou-se o extrato por Cromatografia Líquida de Alta Resolução com Detecção de Fluorescência (HPLC-FLD). As recuperações de analitos alcançadas (61-114%) foram comparáveis às esperadas usando técnicas tradicionais de extração e com moderada incerteza. Os resultados foram consistentes com as expectativas em termos das faixas analíticas e de concentração requeridas.

Palavras-chave: Extração, PAHs, HPLC-FLD, amostras aquosas, partição líquido-líquido.

ABSTRACT

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are a group of more than 100 different chemical substances, which contain two, or more fused aromatic rings most of them toxic or carcinogenic. In this study, the Quechers extraction conditions were adapted to perform the extraction of aqueous samples. Quechers has become a standard technique for the analysis of pesticides and other organic substances. Its simplicity and low cost have made it popular in laboratories around the world for processing samples such as fruits and vegetables. The success of this method on solid samples contrasts with the advances in the extraction of aqueous samples where tedious steps of extraction, concentration and solvent changes must be carried out prior to the instrumental analysis. A methodology for the liquid-liquid extraction (water/acetonitrile) of 15 PAHs in aqueous matrices was developed. The mixture was saturated with anhydrous sodium sulfate to cause the partitioning and the extract was analyzed by High-Resolution Liquid Chromatography with Fluorescence Detection (HPLC-FLD). The recoveries of analytes achieved (61-114%) were comparable to those expected using traditional extraction techniques, and with moderate uncertainty. The results were consistent with the expectations for of the required analytical and concentration ranges.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Keywords: Extraction, HAPs, HPLC-FLD, Aqueous samples, Liquid-liquid partition.

INTRODUCTION

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are a group of more than 100 different chemical substances (US ATSDR, 1996) (Baird and Cann, 2012), which contain two or more fused aromatic rings (Nollet and Toldra, 2012). They are formed naturally in fuels such as coal, oil, gasoline, gas, or as products of their combustion in low-oxygen atmospheres between 500 to 900 °C, or in the pyrolysis of other organic materials such as wood, garbage and in cigarette smoke. The PAHs generated from these sources are complex mixtures of compounds. High-temperature cooking forms PAHs in food (US HSS, CDC, 2013). Natural sources of PAHs are forest fires and volcanoes (Nollet and Toldra, 2012).

PAHs are toxic and carcinogenic organic compounds (Food safety authority of Ireland, 2015). It is considered that PAHs attached to particles are very dangerous for human health (WHO EU, 2010) (Baird and Cann, 2012). PAHs are also important water pollutants that enter the aquatic environment due to offshore oil spills. The larger PAHs bioaccumulates in the fatty tissues of some marine organisms, which has been linked to liver injuries and tumors in some fish. It is thought that PAHs, polychlorinated biphenyls and Mirex have devastated populations of beluga whales. In drinking water, PAHs are not a representative source of these compounds for humans (Baird and Cann, 2012). The major source of contamination of PAHs in drinking water in developing countries is coal tar, which is used as protection against corrosion in iron pipes. The consumption and exposure to PAHs caused by this source can equal or exceed the amount produced through other routes such as food. Despite this, fluoranthene, which is the compound most frequently associated with this type of contamination, is not regulated because the concentrations found in drinking water are below limits detrimental to human health. The levels of PAHs in uncontaminated underground water are usually in the range of 0-5ng/l; Concentrations in contaminated underground water can exceed 10µg/l; and the typical concentration range for the sum of PAHs in drinking water is approximately 1ng /l - 11µg/l (WHO WS, 2003).

In the last 40 years, a large number of techniques for the determination of PAHs have been published; they are also cited as PNAs (Polynuclear Aromatics), and within other chemicals families like neutral bases and semi-volatile compounds. The methods commonly involve extraction, clean-up and quantification by chromatography techniques (Nollet and Toldra, 2012). Table 1 shows a summary of the instrumental techniques of some standardized methods and table 2 shows the most commonly used extraction methods.

In the GC analysis, there is possibility of total or partial coelution of compounds. In the EPA 8100 and SM 6440 method, four coelutions are listed: anthracene-phenanthrene; chrysene-benzo(a)anthracene; benzo(b)fluoranthene-benzo(k)fluoranthene; dibenzo(a,h)anthracene-indeno(1,2,3-cd)pyrene. The critical group are the 3 benzo (b,j,k) fluoranthenes.

The HPLC method is a reversed phase separation based on a water-acetonitrile gradient with the C18 column, this separation resolves completely the coelutions (US EPA 8310, 1986) (APHA, 2012). The detection is made by UV absorption at 254 nm or fluorescence. Most PAHs are natural fluorophores, therefore, detection by FLD is direct without derivatization (APHA, 2012). Acenaphthylene and Cyclopenta(cd)pyrene do not exhibit fluorescence. Comparatively, detection by FLD is more sensitive and selective than UV (Nollet and Toldra, 2012). The HPLC methods show some difficulties because is necessary to make steps like KD concentration and solvent changes normally from dichloromethane to acetonitrile or water-miscible solvents, Steps that are complex, time-consuming and that could be error sources.

Other immunoassay techniques like the method US EPA 4035 have also been developed, the PAHs present reacts with antibodies in the ELISA kit giving color; the concentration is determined at 450nm. These techniques are more sensitive to three-ring and four-ring PAHs; but also react with the majority of compounds with five and six rings. Those kits are calibrated with and report the existing species as phenanthrene or benzo(a)pyrene without differentiating them (US EPA 4035, 1996).

The determination of PAHs in the laboratory an inherent risk due to the potential danger that the analytes represent, but also by

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

the analysis itself due to the use of dichloromethane as extraction solvent (NIOSH, 2016). Despite the analytical importance of this family of chemicals, no fundamental changes have been observed in standardized methods since the eighties. The QuEChERS technique (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) and similar ones such as US EPA 8330 (2007) make use of the partition phenomenon that is observed in certain homogeneous mixtures of solvents after saturating the mixture with a salt. The use of this property allows the liquid-liquid extractions to change the traditional non-polar solvents immiscible with water such as hexane and dichloromethane for others more polar and partitionable by the action of salts such as acetonitrile, isopropanol and acetone (Lehotay, Anastassiades and Majors, 2010). This type of extraction called SALLE Salting-out Liquid-Liquid Extraction (Majors, 2009) has been used successfully in several analytes including PAHs in soil and food matrices (Pule 2012; Gratz 2010).

The Quechers is 2-step procedure; first is the extraction where the sample is homogenized in water, added acetonitrile, and then the mixture is separated by adding a high amount of anhydrous magnesium sulfate. In the AOAC variant, the mixture is buffered with acetate and 1% acetic acid and in the CEN (European Standardization Committee) variant this function is carried out with citrate and sodium chloride. The buffer effect at pH 5 improves the recovery of specific pesticides. The second step is a clean-up phase this is called dispersive SPE (dSPE) where anhydrous magnesium sulfate is used with, PSA and C18 (Lehotay, Anastassiades and Majors, 2010; Waters, 2012).

In this study modifications were made to the Quechers technique for the direct extraction of the water sample with acetonitrile, the partitioning was done with magnesium sulfate. The analytes were 15 PAHs fluorophores: Naphthalene, Acenaphthene, Fluorene, Phenanthrene, Anthracene, Fluoranthene, Pyrene, Benz[a]anthracene, Chrysene, Benzo[b]fluoranthene, Benzo[k]fluoranthene, Benzo[a]pyrene, Dibenz[a,h]anthracene, Benzo[ghi]perylene, Indeno[1,2,3-cd]pyrene. The evaluated matrices were drinking water, natural water and wastewater. This work encompassed the optimization of the instrumental conditions, the establishment of the extraction, and the method validation for the listed matrices

MATERIALS AND METHODS

2.1. Standards and reagents

The solutions used for calculating the instrumental response factor and accuracy were made with dilutions of 2 different standards PAH Mixture # 4-550 of Chemservice (used for verification purposes) and PAH Mix M-8310-QC-ATI from Accustandard (used for calibration and spiking). The calibration was performed using between 4 and 6 concentration levels for each compound.

Recovery and uncertainty was tested in 4 concentration levels, 3 of these levels were spiked water matrices these are: drinking water (from laboratory water supply), natural water (untreated water from the supply of a drinking water treatment plant in Quito) and wastewater (from a dairy plant in Quito) these are real samples received at the laboratory. For the fourth concentration level was used a Certified Reference Material from a Proficiency Testing (PT) round organized in April 2016 by Asequality in Quito.

For the partitioning, previously muffled magnesium sulfate at more than 400 °C for at least 6 hours was used. The sodium acetate was also treated in an oven at a temperature of 150 ° C for at least 6 hours

The extractions, standards and dilutions were carried out with acetonitrile. 2 different brands were tested, Fisher and Merck. The best results were obtained with Merck LiCrosolv 2.2. Instrumental

Samples and standards were analyzed by high-performance chromatography liquid with a fluorescence detector (HPLC-FLD) on an HPLC Agilent infinity 1260 with an Agilent ZORBAX Eclipse column PAH C18 4.6 x 50mm 1.8um. The signal processing was performed in the software OpenLab CDS EZChrom, the signal subtraction ability is required.

The chromatographic separation was achieved by adapting the conditions of Henderson (2008). The flow rate of 2 ml/min causes a high back pressure that exceeds the maximum pressure of the used column guard cartridge, for this reason, the flow rate was reduced to 1 ml/min.

The chromatographic separation was performed in a 13 minute in gradient mode with

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Water (A) and Acetonitrile (B) as mobile phase (0 min 45% B, 7 min 100% B, 11.30 min 100% B, 11.90 45%B). The injection volume was 5 uL.

With this method all peaks were resolved in less than 12 min. figure 1, shows chromatograms examples obtained through the detailed conditions. The 4 peak coelution formed by 1 and 2 methyl-naphthalenes, acenaphthene and fluorene, presented no problems for identification and quantification.

The FLD instrumental response optimization was tested trying to get the highest signal possible, initially were tested different bibliographic emission and excitation wavelengths, but because the substantial differences obtained, and starting from the precept that on different equipment and with different software, you can obtain results remarkably different (Agilent, 2012). Was decided to determine individually the wavelengths to obtain the maximum sensitivity

The excitation wavelengths optimization was performed using bibliographic information because the HPLC does not have DAD. The emission wavelengths were optimized by controlled peak elution to the detector, multi-channel detection and using the fluorescence spectra tool in the FLD. Table 3 shows the wavelengths selected for each peak and the retention times. And figure 2 shows an obtained fluorescence spectra. The setting of the PMT gain (detector´s signal gain factor) was set on the basis of the signals in the lowest standards. This manner the factor 18, which is the maximum gain, was chosen, under this conditions the noise level and baseline disturbances do not increase significantly

2.2. Preparation of the sample

To define the extraction to be used, the US EPA 8330 and the AOAC2007.01 standardized extraction methods were selected initially, since these are based on mixtures of water and acetonitrile and uses easily obtained salts. The extraction based on EPA 8330, was discarded and spiking tests were not performed because the acetonitrile recovered after the partitioning was around 6,3% of the original used volume and sodium chloride dissolving was difficult.

The method AOAC 2007.01 is a standardized method for fruits and vegetables. However, in the notes section, details the use of 13 ml of reagent-grade water like extraction blank. Based on this, a proportion of 0.5 g of anhydrous magnesium sulfate per gram of water (sample) was used (AOAC, 2007). Two water: solvent ratios were tested. One of them was 10 ml of water with 10 ml of acetonitrile (10:10), the partitioning carried out with 6 g of anhydrous magnesium sulfate. The second one was 25 ml of water with 5 ml of acetonitrile (25:5) and 12 g of anhydrous magnesium sulfate for partitioning, this in order to achieve a concentration factor in the extracting solvent.

The recovered acetonitrile in the 10:10 ratio extraction was about 9.5 ml equivalent to 95% of the added solvent amount. In the 25:5 ratio extraction, was recovered about 4.5 ml equivalent to 90%. In both cases the salt solvatation were exothermic but the dissolution is easily performed. Hence, both extractions were used for evaluation. The 25:5 ratio was used in the low and medium-low levels of the spiked concentrations. The 10:10 ratio was used for the two higher concentration levels.

The 25:5 extracts were filtered directly in a vial by PTFE syringe filter and injected to the HPLC by this extraction were processed the drinking and natural waters. The 10:10 extracts were clean up by dSPE and them filtered and analyzed like the other one

In the original AOAC 2007.01 method acetonitrile with 1% acetic acid is used as an extraction solvent to give a buffer effect with sodium acetate that improves the extraction of certain pesticides. However, in this study acetic acid was not use, in order to simplify the extraction and based on the results obtained by Pule (2012), it is not necessary for PAHs extraction.

Additional tests were performed with anhydrous sodium acetate and with Quechers extraction packets from Agilent Technologies (Part.No 5982-5755). The clean-up was performed with, dSPE kits: 2 types were tested (Part.No 5982-5158) from Agilent Technologies and (Part.No QUDISAOFK2) from Scharlau Science Group.gradient HPLC (1,00030.4000).

RESULTS AND DISCUSSION:

3.1 Method optimization

In the evaluation of the use of anhydrous

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

sodium acetate, it was observed that its addition increases the recovery of the analytes between 5 to 12% with an average of 8%. However, the use of sodium acetate causes disturbances in the baseline, thus difficulting the detection of analytes at low concentrations. An attempt was made to eliminate this effect through oven heat treatment at 150 ° C given the impossibility of subjecting the acetate to higher temperatures due to the risk of decomposition, however, the troubles in the baseline were not reduced, which is why sodium acetate was not used at low and medium-low levels.

For the blank tests performed with the Quechers extraction kit (Part.No 5982-5755) from Agilent Technologies two different lots were used, in both, it was found that in the extracts obtained by this way it shows discrete peaks in or near of the retention times of the naphthalene acenaphthene, fluorene, phenanthrene. In one of the, both tested lots an extra peak was observed between the retention time of dibenzo (a,h) anthracene and benzo(g, h, i)perylene. The number of discrete peaks and their size was variable between the evaluated lots. Some of these peaks were larger than the signal produced by the analytes, for this reason, the possibility of using this product in the evaluation was ruled out.

The results showed that the effect of the use of the tube for clean-up by dSPE is also beneficial for the recovery of the analytes, with an increase in the recovery from 3 to 10% with an average of 7% for the tubes that were extracted with sodium acetate. And from 11 to 30% with an average of 14% for the analytes extracted without sodium acetate.

In the tested dSPE tubes, as the same manner than in the Agilent extraction kit, discrete peaks were found in the chromatogram, in the retention times of the naphthalene, acenaphthene, fluorene, and phenanthrene. But in concentrated samples, their effect on the chromatogram has lesser importance and decreases when the extracts are diluted. Comparatively the signal from the Agilent´s dSPE tube was slightly lower than the Scharlau´s tube. Due to these considerations and to the detriment of the recovery of some analytes, and based on the studies of (Gratz, et al., 2010) the clean-up phase was not used for clean samples, these correspond to the matrices of drinking and natural water. For residual water matrices, (the 2 highest levels) Agilent´s dSPE was used because these extracts required dilutions and additionally in order to avoid that contaminants from wasted samples pollute the column and the HPLC system.

The multiple wavelength changes in the FLD and the gradient that is used causes different changes in the baseline. This effect is increased in the blanks and sample injections because of matrix effects, reagents, vials and containers. To improve the signal processing and for reducing some of these troubles to all chromatograms of samples were subtracted the chromatogram of the matrix blank both at the same dilution. This allowed to extend the working ranges in the lowest concentrations. In other tests were found that the main source of the noise and discrete peaks could be the plastic tubes used in the extraction, the better results were got with 50ml tubes (Part.No CLS430291) from Corning cooled with water after the salt addition. The chromatograms of the calibration solutions were integrated as it, without subtraction.

As the basis of quality goals, for calibration and verification only concentration levels from standards prepared throughout the entire calibration range with average areas that meet the RSD ≤15% were used (Standard Methods, 6440B, 2012). The limits for the slope of the calibration curve was set to ± 20% of the slope obtained from standards with a different origin (US EPA 8000, 2014).

3.2 Recovery tests and validation data

Table 4 shows the recovery tests in the four concentration levels performed for all the compounds. The percentage presented is the average of the 9 repetitions carried out per compound and per level according to the statistical plan proposed. The origin of these four levels must be specified to interpret the results obtained. The 3 levels low, medium-low and high, were spiked samples. For these samples not characterized by any external source of certification, the assigned value was the theoretical concentration resulting from the calculated fortification. This means that in these samples the real value (“made to” or gravimetric) and assigned value (certified) is the same which in practice does not occur in the certification of interlaboratory materials and tests.

The certified value is the average result obtained from various sources or techniques or laboratories and this is a value that is commonly

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

lower than the real value at which the sample was fortified since the result is affected by the recovery of the methods used to characterize the material. According to Standard Methods and the FoPT of TNI-Nelac. In PAHs techniques, it is expected to have recoveries of around 70 and 80% and even lower recoveries in the standardized methods. This fact causes that in the case of the MRC some recoveries exceeded 100% reason why it is deduced that the extraction tested is more efficient in certain compounds. With this considerations, in the 4 levels tested in a general way recovery between 61 to 114% were obtained.

In the case of the MRC Asequality, in the medium-high level, the highest recovery was obtained in naphthalene with 114%, confirming what is described in the literature that this technique has greater recovery than traditional techniques in more polar and volatile compounds. The advantage can come from performing the extraction in a closed container and the omission of the steps like KD concentration and solvent change. Opposite effect to that observed in compounds of higher molecular weights such as dibenzo(a,h)anthracene, and benzo(g,h,i) perylene, suggestively, the high polarity of acetonitrile could be one of the causes.

In relation to the fortified materials, in almost all the analyzed compounds a reduction of the recovery is observed while the concentration increases, this is attributed to the contribution in the total volume of acetonitrile caused by the fortification. This extra volume of acetonitrile was not considered in the total extraction volume. In the highest range it is 417 ul equivalent to 4.2% and in this group the lowest recovery occurred in the case of the Indeno(1,2,3-cd)pyrene with 61%. In the low and medium-low level, the amount of solvent provided is 93.4 ul and 333 ul respectively. This translates into a dilution of the extract of 1.9% for the low range and 6.7% for the low middle range.

If this additional volume is considered and the recovery percentages are corrected, the values go up and begin to approach each other. But the same tendency is retained due to recovery being lower at higher concentrations. No possible cause was found for this phenomenon. Saturation is ruled out since PAHs are very soluble in acetonitrile and the standards even have higher concentrations (without magnesium sulfate) and can only exhibit that behavior at low temperatures, conditions that were not employed in this case.

Table 5 shows the uncertainty data obtained for each compound, a very similar behavior is observed in all compounds, and in the different levels. The average uncertainty is 13.5% with a maximum uncertainty of 23.1% which corresponds to acenaphthene in the Asequality MRC. This increase is caused by the reading level in the curve since this compound has the smallest peak in relation to the other compounds in the reference material see Figure 1.

The uncertainty distribution in function to the concentration is very homogeneous and the values are very close in the fortified samples. This must happen because, at the time of making the dilutions from the extracts of the fortified samples, the final concentration was adjusted to enter a narrow range of the curve between 3 standards where all the peaks are in the calibration range so as not to make several dilutions and injections for the same concentration level. Thus, the influence of uncertainty due to the curve was minimized.).

However, the samples undergo an extraction process in different concentrations from the matrix, maintain different sample and solvent relationships and are subject to dilution, which are factors that also contribute to the data dispersion. These contributions are also moderate since the homogeneity of the uncertainties is maintained, which indicates that homogeneity is maintained in the processing of the samples. Additionally, this point would not apply to the MRC Asequality since it has a distinct origin and concentrations of the compounds different from the fortifications but despite this, the homogeneity is maintained in all cases except for the acenaphthene that was already discussed.

In general, the realization of the method followed the guidelines presented in the reference methods and achieved recoveries of analytes at low levels comparable to those expected using traditional extraction techniques, and moreover with moderate uncertainty. Having fulfilled the expectations of the laboratory for the analytical requirement and in the concentration ranges useful for the most frequent samples in the laboratory, the method was declared valid.

The analites recovery raises when sodium acetate is used and after the clean up by dSPE due to this fact, the recovery of some compounds may exceed the expected ranges in the standard

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

methods and can fall out of the approval window in proficiency testing programs. This is a factor to decide when this technique is implemented.

CONCLUSIONS:

Comparing the traditional extraction carried out with dichloromethane or other non-polar solvents with SALLE extraction, for the determination of PAHs in water by HPLC, it was determined that it presents the following advantages and disadvantages:

Advantage

It requires common laboratory instruments, closed containers, vortex and centrifuge. No distillation systems or large or permanent spaces are required for performing this extraction. This makes easy the development of this technique in any laboratory without large investments. A large amount of sample is not required which allows for reducing the number of bottles that arrive at the laboratory per sample resulting in the decongestion of the lab spaces, fridges and storage sites. It reduces logistics and shipping costs easing the workload of sampling personnel

Between 5 and 10 ml of acetonitrile is required per sample which reduces the cost of extraction, facilitates the processing of the samples and reduces wastes and the risk of accidents when handling large volumes of solvent. A solvent change procedure is not necessary since the extraction solvent is acetonitrile and can be injected directly into the HPLC. This reduces the time and improves the recovery of volatile analytes such as Naphthalene. It allows for the quick extraction of several samples simultaneously which reduces labor costs and increases the processing capacity of the laboratory. In the tests carried out, it was proven that a single analyst can process up to 8 samples in less than one hour.

The risk is reduced since acetonitrile is a less dangerous and toxic compound than dichloromethane and is not very volatile, making it difficult to reach high concentrations in the environment. It does not mean that acetonitrile is not dangerous, but their toxicity is lower and to date, no security agency has classified it as a carcinogen.

Low-cost disposable materials can be used, which reduce the risk of cross-contamination or carryover thus, eliminating the risk to the laboratory personnel by washing contaminated materials with residues from samples or fortifications.

Since acetonitrile is a more polar compound than dichloromethane (dipolar moment of 3.92 D vs 1.6 D of dichloromethane), a wider range of substances with medium to high polarity is dissolved, thus improving the recovery of a wide range of analytes which could be used in the development of other methods.

Disadvantages

SALLE, when using low amounts of sample and solvent, does not easily allow for use of concentration techniques to reach lower limits, therefore, the instrument used must be more sensitive than traditional techniques.

Acetonitrile in addition to the analytes of interest can extract interferers other than those extracted with dichloromethane. This requires that the instrumental technique be very selective and robust to distinguish the matrix signal from the analytes.

SALLE extraction in an almost exclusive way makes use of the clean-up by dSPE, which does not have such a high effectiveness. To carry out a traditional clean-up operation, solvent change or concentration procedures may be performed where analytes could be lost. The amount of salt used is large in relation to the amount of sample. So, the price of this reagent is important in the cost of the analysis and limits the possibility of using larger amounts of sample to improve quantification limits. In addition, their wastes require treatment.

Despite the disadvantages exposed, there are numerous benefits insolvent savings, risk reduction, time-saving, ease of extraction and the great applicability that has been seen of this technique for HAPs and other analytes in more complex matrices.

Recommendations

The working ranges in calibration and in sample spiking were strongly limited because was difficult to adjust the dilutions of the standards in premixed form with the different peak sensitivities. None of the concentrations premixed like EPA 8310, 550 or isotonic

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

standards are easily adjusted to the working ranges achieved in the HPLC-FLD. In addition, isotonic standards are generally used for GC and they are prepared in incompatible solvents for reverse phase. Could be more beneficial to design a specific concentration mix to improve the working ranges

The analyst must be scrupulous in the selection of work materials, i.e., vials, filters, syringes, solvents; even the same variability between reagent lots from the same manufacturer could give distortions on the baseline and discrete peaks. Some problems were solved with the subtraction by the software of the blank signals in the samples and by the heat treatment of the salts, however, it is always more valuable to have the chromatogram free of these problems.

The personnel performing the extraction must be very familiar with the technique and have sufficient dexterity, since salinization, being an exothermic reaction, is one of the greatest sources of error due to evaporation of the solvent and can be the cause of accidents. The cleaning of the material must be carried out according to exposure in the Standard Methods and the material must not be used for other analyses (dedicated material). Even the sharing of automatic pipettes with disposable tips often leads to problems in all types of instrumental chromatography.

As with all HPLC techniques, a record of the pressure variation in the column must be maintained throughout its shelf life which eventually affects the retention times in a few seconds. This does not affect the integration windows, but it does affect the wavelength-time change programmed in the detector, with drifts in the response function which may impair quantification.

REFERENCES:

1. Agilent Technologies, Inc.*Agilent Bond Elut QuEChERS extraction kit a collection of citations to advance your research*. 5991-3065EN. **2014**.Available at: http://www.agilent.com/cs/library/Citations/Agilent%20QuEChERS%20ext%20kit.pdf
2. AOAC International. AOAC Official Method 2007.01 *Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate Gas Chromatography / Mass Spectrometry and Liquid Chromatography / Tandem Mass Spectrometry*. **2007**.Available at: https://nucleus.iaea.org/fcris/methods/MRM_AOAC_2007_01.pdf
3. Baird, C., Cann, M. *Química Ambiental*. **2012**. ISBN: 978-84-291-7915-6. 663-672
4. Comité Européen de Normalisation CEN. *Determination of Pesticide Residues Using GC-MS and/or LC-MS/MS following Acetonitrile Extraction/Partitioning and Clean-up by Dispersive SPE QuEChERS-Method*.BS EN 15662:2008 Foods of Plant origin. **2008**. Available at: http://www.chromnet.net/Taiwan/QuEChERS_Dispersive_SPE/QuEChERS_%E6%AD%90%E7%9B%9F%E6%96%B9%E6%B3%95_EN156622008_E.pdf
5. De Gisi, S., Lofrano, G., Grassi, M., Notarnicola, M. *An Overview of Low-Cost Adsorbents for Wastewater Treatment, Sustainable Materials and Technologies*. **2016**. doi: 10.1016/j.susmat.2016.06.002
6. Department of Health &Human Services USA. Agency for Toxic Substances and Disease Registry ATSDR. *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) ToxFAQs*. **1996.** Available at: https://www.atsdr.cdc.gov/toxfaqs/tfacts69.pdf
7. Department of Health &Human Services USA. Agency for Toxic Substances and Disease Registry ATSDR. *Case Studies in Environmental Medicine Toxicity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs)*. **2009**. Available at: https://www.atsdr.cdc.gov/csem/pah/docs/pah.pdf
8. Drinking Water Inspectorate. *What are The Drinking Water Standards*. **2010**. Availableat: http://dwi.defra.gov.uk/consumers/advice-leaflets/standards.pdf
9. Drinking Water Inspectorate. Water, England and Wales. *The Water Supply (Water Quality) Regulations 2016*. **2016**. Available at: http://www.legislation.gov.uk/uksi/2016/614/pdfs/uksi_20160614_en.pdf
10. Drinking Water Inspectorate.*Guidance on the implementation of the water supply*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

(water quality) regulations 2000 regulations 2000 (as amended) in England. **2010**. Available at: http://dwi.defra.gov.uk/stakeholders/guidance-and-codes-of-practice/WS(WQ)-regs-england2010.pdf

11. Drinking Water Inspectorate.*Guidance on the implementation of the water supply (water quality) regulations 2010 in Wales*. **2010**. Available at: http://www.dwi.gov.uk/stakeholders/guidance-and-codes-of-practice/WS(WQ)%20Regulations%20Wales2010.pdf
12. Environmental Protection Agency. *EPA Method 610: Polynuclear Aromatic Hydrocarbons*. **1984**. Available at: https://www.nemi.gov/methods/method_summary/4713/
13. Environmental Protection Agency. *Method 1625): Base/Neutrals and Acids*. **1984**. Available at:https://www.nemi.gov/methods/method_summary/4686/
14. Environmental Protection Agency.*Method 525.2, Revision 2.0: Determination of Organic Compounds in Drinking Water by Liquid-Solid Extraction and Capillary Column Gas Chromatography/Mass Spectrometry*. **1995**. Available at: https://www.nemi.gov/methods/method_summary/4804/
15. Environmental Protection Agency. Method 550(1990). *Determination Of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons InDrinking Water By Liquid-Liquid Extraction And HPLC WithCoupled Ultraviolet And Fluorescence Detection*. **1990**. Available at: https://www.nemi.gov/methods/method_pdf/4782/
16. Environmental Protection Agency.*Method 8100 Polynuclear Aromatic Hydrocarbons*. **1986**. Available at: https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/8100.pdf
17. Environmental Protection Agency, *Method 8270D Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS)*. **1998**. Available at: https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-07/documents/epa-8270d.pdf
18. Environmental Protection Agency. *Method U.S. EPA-OGWDW/TSC: 551.1 Determination of Chlorinated Disinfection Byproducts, Chlorinated Solvents, and Halogenated Pesticides/Herbicides in Drinking Water by Liquid/Liquid Extraction and Gas Chromatography with Electron Capture Detection*. **1995**. Available at: https://www.nemi.gov/methods/method_summary/4809/
19. Environmental Protection Agency. *Method U.S. EPA-Method 4035: Soil Screening for Polynuclear Aromatic Hydrocarbons by Immunoassay*. **1996**. Available at:https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/4035_0.pdf
20. Environmental Protection Agency. *Method 8310 Polynuclear Aromatic Hydrocarbons*. **1986**. Available at:https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/8310.pdf
21. Environmental Protection Agency. *Method U.S. EPA 8330A/B: Nitroaromatics, Nitramines, and Nitrate Esters by High-Performance Liquid Chromatography*. **2006/2007**. Available at:https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-07/documents/epa-8330b.pdf
22. Environmental Protection Agency. *Phenanthrene Factsheet*. **1993**. Available at: https://archive.epa.gov/epawaste/hazard/wastemin/web/pdf/phenanth.pdf
23. Environmental Protection Agency. *Method U.S. EPA Method 8000d Determinative Chromatographic Separations*. **2014**. Available at: https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/8000d.pdf
24. European Commission Joint Research Centre, Lerda, D. *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) Factsheet*.**2011**. Available at: https://ec.europa.eu/jrc/sites/jrcsh/files/Factsheet%20PAH_0.pdf
25. Food safety authority of Ireland. *PAHs in Food*. **2015**. Available at: https://www.fsai.ie/workarea/downloadasset.aspx?id=8416

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

26. Gratz, S., Mohrhaus, A.,Gamble, B., Gracie, J., Jackson,D.,Roetting, J., Ciolino, L., McCauley, H., Schneider, G., Crockett, D., Krol, W., Arsenault, T., White, J., Flottmeyer, M., Johnson, Y., Heitkemper, D., Fricke, F. *Screen for the Presence of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Select Seafoods Using LC-Fluorescence. FDA/ORA/DFS*. **2010**. Laboratory Information Bulletin No. 4475, 1-39. Available at: http://www.fda.gov/downloads/ScienceResearch/UCM220209.pdf

27. Henderson, J., Biazzo, W., and Long, W. *Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) Separations Using ZORBAX Eclipse PAH Columns – Analyses from Six to 24 PAH*s. **2008**. 5989-7968EN. Available at: http://www.crawfordscientific.com/downloads/Newsletters_pdf/08December/Eclipse_PAH_2.pdf

28. International Agency for Research on Cancer IARC.*List of classifications Carcinogenic Risks to Humans.* **2016**. 1–117. Availableat:http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/List_of_Classifications.pdf

29. Lehotay Steven J., Ronald E. Majors, Michelangelo Anastassiades. Quechers Revolution*, LCGC Europe*. **2010**. 23:8. 418–429.Available at: http://www.chromatographyonline.com/quechers-revolution

30. Majors Ronald E. Salting-out Liquid-Liquid Extraction (SALLE).*LCGC North America*. **2009**. 27:7. 526–533 Available at: http://www.chromatographyonline.com/salting-out-liquid-liquid-extraction-salle

31. Ministry of the Environment Japan. III Analytical Methods. **2016**. Available at: https://www.env.go.jp/en/chemi/pops/Appendix/04-GuideLine/04Chapter3.pdf

32. The National Institute for Occupational Safety and Health.*NIOSH Pocket Guide to Chemical Hazards Methylene chloride*. **2016**.Available at: https://www.cdc.gov/niosh/npg/npgd0414.html

33. Nollet, L., Toldrá, F. *Food Analysis by HPLC*. **2013**. 827. 1003-1016.

34. Occupational Safety and Health Administration. *Methylene Chloride Exposure Limits and Health Effects*. **2012**. Available at: https://www.osha.gov/dts/chemicalsampling/data/CH_253450.html

35. Pérez-Morales, G., Morales-Gómez, P., Haza-Duaso, A. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) (I): Toxicidad, Exposición de la Población y Alimentos Implicados. Revista Complutense de Ciencias Veterinarias **2016** 10:1. 1-7. Available at: https://revistas.ucm.es/index.php/RCCV/article/viewFile/51869/48027

36. Pfannkoch Edward A., John R. Stuff, Jacqueline A. Whitecavage, Jeffrey H. Moran.*Alternative Procedure for Extraction and Analysis of PAHs in Seafood by QuEChERS-SBSE-GC-MS.* **2010** AN/2010/6a - AN/2010/6b parts a y b. Available at: http://www.grupobiomaster.com/aplicaciones_archivo/pgcan201006a_.pdf , http://www.gerstelus.com/media/1036/p-gc-an-2010-06-b.pdf

37. Pule Bellah O, Lesego C. Mmualefe, Nelson Torto.*Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soil with Agilent Bond Elut HPLC-FLD*. **2012**. 5990-5452EN.Available at: https://www.researchgate.net/file.PostFileLoader.html?id=57878382dc332d3d915cc069&assetKey=AS%3A383726010814464%401468498818066

38. Pule Bellah O, Lesego C. Mmualefe, Nelson Torto. Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Fish with Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC Kit and HPLC-FLD. **2012**. 5990-5441EN.Available at: https://www.agilent.com/cs/library/applications/5990-5441EN.pdf

39. Ramalhosa, M., Paíga, P., Morais, S., Sousa, A., Gonçalves, M., Delerue, C., Prior, M. *Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Fish: Optimisation and Validation of Microwave-Assisted Extraction*. **2012**. Available at: http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.078

40. Smith, D. and Lynam, K.*Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) Analysis in Fish by GC/MS Using Agilent Bond Elut QuEChERS dSPE Sample Preparation*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

and a High Efficiency DB-5ms Ultra Inert GC Column. **2012**. 5990-6668EN, Available at: https://www.agilent.com/cs/library/applications/5990-6668EN.pdf

41. Rice, E.W., Baird, R.B., Eaton, A.D. and Clesceri, L.S. *Standard Methods For The Examination Of Water And Wastewater*. **2012**. Method 6440b y Method 6410B.
42. Restek Corporation. *Example dSPE Cleanup: PAHs in Infant Formula QuEChERS Products Fast, Simple Sample Prep for Multiresidue Pesticide*.**2012**.Available at: http://www.restek.com/pdfs/FFBR1183D-UNV.pdf
43. The NELAC Institute National Environmental Laboratory Accreditation Conference. Fields of Proficiency Testing (FoPT). **2016**. Available at: http://nelac-institute.org/content/NEPTP/fopt.php
44. Tornero, V., Hanke, G. Chemical Contaminants Entering the Marine Environment from Sea-Based Sources: A Review With a Focus on European Seas. Marine Pollution Bulletin. **2016**. Available at: http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.06.091
45. Waters Corporation. *QuEChERS Simplificado*. **2012**. Available at: https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720003048es.pdf
46. WHO/EU Drinking Water Standards Comparative Table. **1993-1998**. Available at: http://www.lenntech.com/who-eu-water-standards.htm#ixzz4Reh7C2rj
47. World Health Organization. *Polynuclear aromatic hydrocarbons in Drinking-water Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality*. **2003**. Available at: www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/polyaromahydrocarbons.pdf
48. World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality*. **2011**. Available at: http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/2011/dwq_guidelines/en/ ISBN 978 92 4 154815 1
49. World Health Organization Regional Office for Europe Copenhagen*. Chapter 5.9 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs)*.**2000**.Available at: http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0015/123063/AQG2ndEd_5_9PAH.pdf
50. Young Michael S., Mark E. Benvenuti, Jennifer A. Burgess and Kenneth J. Fountain. *Determination of PAH in Seafood: Optimized Sample Preparation Procedures For LC-Fluorescence Screening and GC-MS(MS) Confirmation.* Waters Corporation. **2011**. 720004162EN LS-PD.Available at: http://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720004126en.pdf
51. Zhang, J., Fan, S. K. Influence of PAH Speciation in Soils on Vegetative Up Take of PAHs Using Successive Extraction. *Journal of Hazardous Materials*. **2016**. 2-4. Available at: dehttp://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.08.024
52. Zhao, S. and Andy Zhai, A. Screening PAHs in Soil Using RTL Database with SampliQ QuEChERS Extraction Kits and Agilent 5975T LTM GC/MS, Agilent Technologies. **2011**. 5990-6324EN. Available at: http://hpst.cz/sites/default/files/attachments/5990-6324en-screening-pahs-soil-using-rtl-sampliq-quechers-extraction-kits-and-5975t-ltm-gc-msd.pdf

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

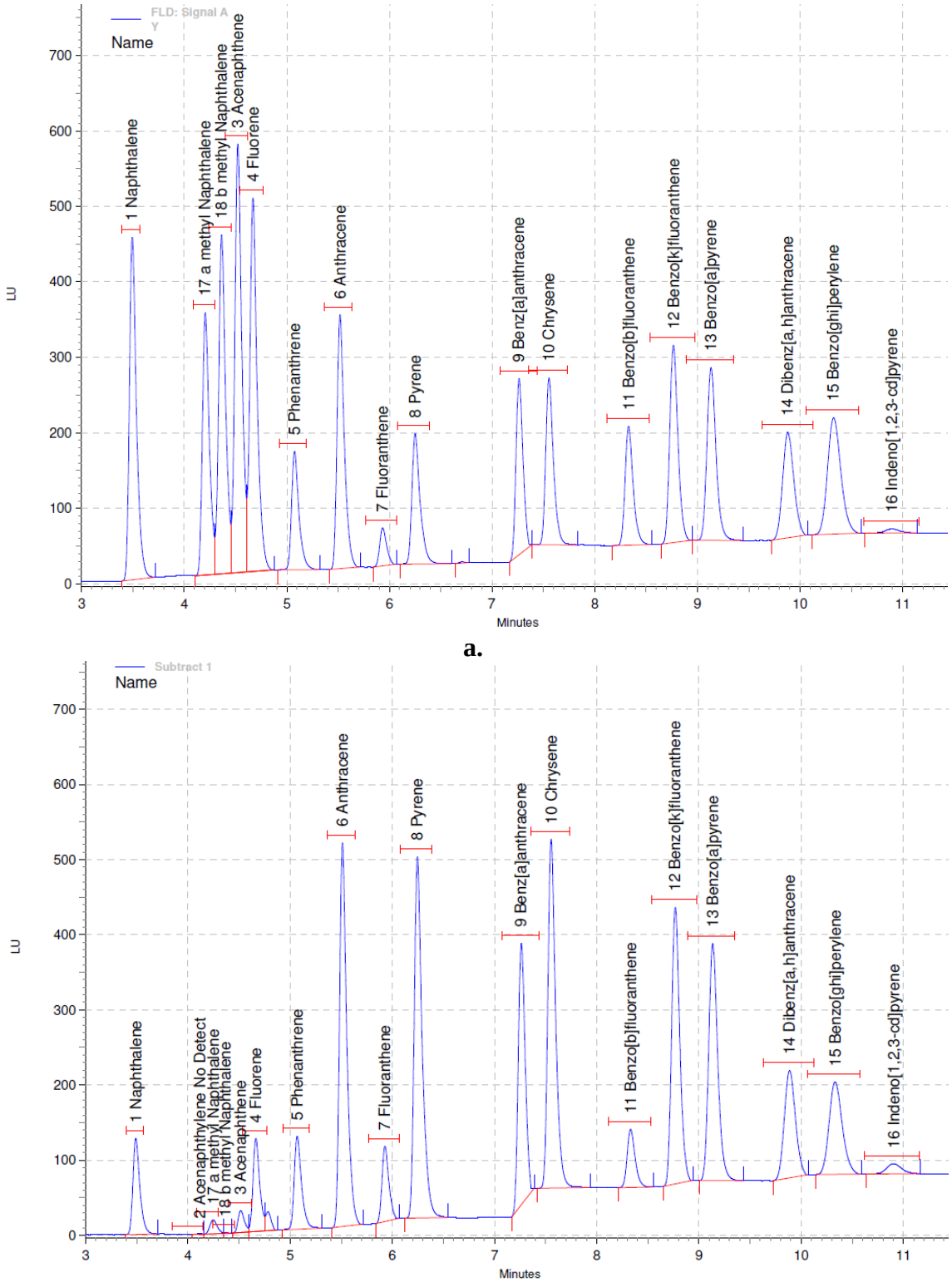


Figure 1. *PAHs chromatograms examples (a. Midpoint calibration solution. b. MRC sample signal subtracted the sample blank signal).*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

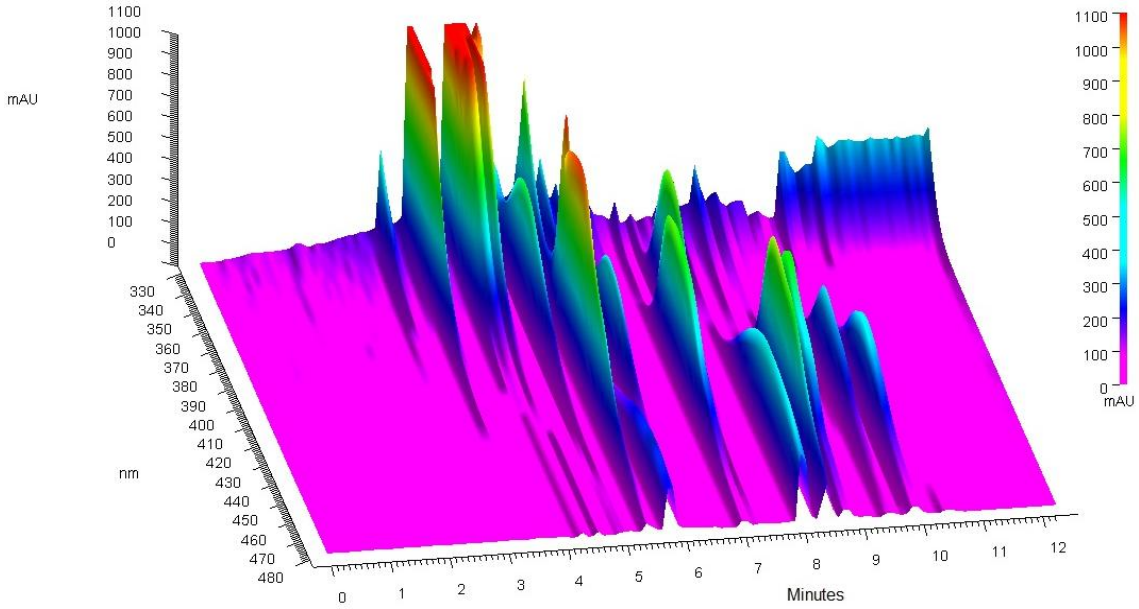


***Figure 2**. Fluorescence spectrum obtained during signals optimization.*

Table 1. Chromatographic techniques for PAH (Summary)

Analytic Technique	Standardized Methods
GC-FID Gas chromatography with Flame ionization detector	US EPA 8100 de 1986 US EPA 610 de 1984 NIOSH 5515 de 1994
GC-MSD Gas chromatography with Mass spectrometric detector	US EPA 525.2 de 1995 US EPA 625 de 1984 US EPA 8270 de 1998
HPLC-UV/FLD High-performance liquid chromatography with Ultraviolet Detector / Fluorescence Detector	US EPA 550 de 1990 US EPA 610 de 1984 US EPA 8310 de 1986 Standard Methods 6440b Ed22 del 2012 US FDA 4475 del 2010 NIOSH 5506 de 1998

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 2. *PAH standardized extraction methods (Summary)*

Extraction type	Used Solvents	Sample injection form to GC	Sample injection form to HPLC	Required Laboratory Apparatus or Wares
Liquid – liquid Sample size 1L	Dichloromethane	Dichloromethane Direct Injection	Solvent change to Acetonitrile	Separatory funnel KD Concentrator
SPE disks or Cartridges SDB-XC C 18 Sample size 1L	Methanol Acetone Ethyl Acetate Dichloromethane	Dichloromethane Direct Injection	Solvent change to Acetonitrile	SPE disks or Cartridges Manifold Vacuum pump KD Concentrator

Table 3. *Retention times and wavelengths used in FLD*

Analytes	Retention time	Excitation nm	Emission nm
Naphthalene	3,503	224	335
Acenaphthene	4,529	269	327
Fluorene	4,676	269	327
Phenanthrene	5,087	250	364
Anthracene	5,53	252	399
Fluoranthene	5,944	234	468
Pyrene	6,264	265	380
Benz[a]anthracene	7,279	280	397
Chrysene	7,574	265	375
Benzo[b]fluoranthene	8,356	260	439
Benzo[k]fluoranthene	8,802	255	419
Benzo[a]pyrene	9,173	260	411
Dibenz[a,h]anthracene	9,947	280	403
Benzo[ghi]perylene	10,404	290	420
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	11,009	293	485

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

***Table 4**. Results by concentration level*

Analytes	Conc Level ug/l	%Sr Repeatability	%SR Reproducibility	% Recovery	%U (k=2)
Naphthalene	6,58	2,97	4,65	81,8	12,57
	23,47	5,87	7,97	63,2	12,28
	84,35	4,22	4,22	114,5	14,46
	1836,6	7,65	7,65	73,6	13,39
Acenaphthene	6,53	2,28	3,90	88,4	11,88
	23,28	4,24	4,24	76,2	11,43
	18,63	4,85	6,63	98,3	23,06
	1822	7,4	7,4	76,7	14,92
Fluorene	1,33	1,99	3,51	89,3	12,16
	4,76	4,73	4,73	79	12,9
	19,89	4,68	4,68	87,5	14,5
	372,3	7,34	7,34	77,4	15,67
Phenanthrene	0,65	2,99	3,73	91,1	12,21
	2,33	4,48	4,48	81,6	11,41
	29	4,22	4,22	94,7	15,28
	182,7	8,06	8,06	78,4	15,52
Anthracene	0,66	1,79	2,88	90,9	11,55
	2,36	4,68	4,68	82,1	12,95
	49,35	3,93	4,10	106,8	14,31
	184,8	7,55	7,55	78,2	15,93
Fluoranthene	1,32	2,14	3,66	83,2	15,45
	4,71	4,60	4,60	75,2	9,31
	132,6	3,83	3,99	91,4	10,85
	368,8	8,17	8,17	71,9	15,57
Pyrene	0,65	2,16	3,93	89,1	12,12
	2,33	4,63	4,7	80,9	12,03
	103,7	3,67	5,82	88,7	14,72
	182	8,08	8,08	76,2	15,61
Benz[a] anthracene	0,67	2	6,23	77,4	13,68
	2,38	4,73	4,86	72,3	9,78
	54,46	4,05	6,74	77,6	14,12
	186,1	7,98	7,98	70	13,18
Chrysene	0,67	1,79	4,26	91,9	12,65
	2,38	4,58	4,58	82,4	12,43
	72,55	3,73	4,79	95,5	11,74
	186,2	7,35	7,35	75,4	15,03
Benzo[b] fluoranthene	1,33	1,9	3,46	90,2	12,02
	4,76	4,57	4,57	80,8	12,1

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

	31,35	3,71	4,37	100,9	11,42
	372,3	7,03	7,03	72,3	14,14
Benzo[k] fluoranthene	0,66	1,83	4,36	86,6	12,25
	2,37	4,25	4,25	79	11,59
	50,86	3,23	4,98	84,1	13,05
	185,3	7,33	7,33	70,7	12,49
Benzo[a] pyrene	0,66	1,66	3,65	87,7	12,02
	2,34	4,31	4,31	81,6	12,48
	46,45	3,14	5,46	93,4	15,6
	183,1	6,59	6,59	70,2	11,82
Dibenz[a,h] anthracene	1,32	1,57	8,05	76,2	15,66
	4,7	5,21	6,06	73,5	13,26
	72,4	3,41	9,6	71,8	17,07
	367,9	7,36	7,36	65,6	11,94
Benzo[ghi] perylene	1,3	1,53	5,48	82	13,16
	4,64	4,55	4,76	77,6	11,92
	60,66	2,82	8,15	71,1	16,49
	363,3	6,87	6,87	62,5	11,04
Indeno[1,2,3-cd] pyrene	0,66	3,51	3,51	80	17,13
	2,36	5,4	6,22	74,3	14,69
	82,25	2,76	7,31	83,1	14,24
	184,9	5,09	5,09	60,7	13,17

Table 5. *Uncertainty comparison at tested levels vs PT study*

	PT Studys	**Drinking Water**	**Natural Water**	**PT water sample**	**Waste Water**
Naphthalene	22,0%	12,6%	12,3%	14,5%	13,4%
Acenaphthene	18,2%	11,9%	11,4%	23,1%	14,9%
Fluorene	17,6%	12,2%	12,9%	14,5%	15,7%
Phenanthrene	15,8%	12,2%	11,4%	15,3%	15,5%
Anthracene	16,3%	11,6%	13,0%	14,3%	15,9%
Fluoranthene	15,4%	15,5%	9,3%	10,9%	15,6%
Pyrene	17,5%	12,1%	12,0%	14,7%	15,6%
Benz[a]anthracene	14,8%	13,7%	9,8%	14,1%	13,2%
Chrysene	16,3%	12,7%	12,4%	11,7%	15,0%
Benzo[b]fluoranthene	18,2%	12,0%	12,1%	11,4%	14,1%
Benzo[k]fluoranthene	23,9%	12,3%	11,6%	13,1%	12,5%
Benzo[a]pyrene	19,1%	12,0%	12,5%	15,6%	11,8%
Dibenz[a,h]anthracene	19,2%	15,7%	13,3%	17,1%	11,9%
Benzo[ghi]perylene	18,4%	13,2%	11,9%	16,5%	11,0%
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	20,6%	17,1%	14,7%	14,2%	13,2%

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

CARACTERIZAÇÃO DE FIBRAS DE SISAL POR INFRAVERMELHO, UV-VIS POR REFLECTÂNCIA DIFUSA E MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

CHARACTERIZATION OF SISAL FIBERS BY INFRARED, UV-VIS DIFFUSE REFLECTANCE AND SCANNING ELECTRON MICROSCOPY

AMORIM, Laudenor[1*]; DE MELO, Santino Loruan Silvestre[2], DE PAIVA JÚNIOR, Sérgio Luís Moura[3]; DE DEUS, Enio Pontes[4];

[1,2,3,4] Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, Avenida Humberto Monte, S/N, CEP 60.440-554, Fortaleza – CE, Brasil
(Fone: +55 85 3366 9619; Fax: +55 85 3366 9070)

** Autor correspondente*
e-mail: quimicolaudenor@gmail.com

Received 10 May 2018; received in revised form 16 July 2018; accepted 25 July 2018

RESUMO

O desenvolvimento de materiais mais resistentes e baratos foram importantes para o surgimento de compósitos, materiais que são resultantes da mistura de dois ou mais componentes distintos, com propriedades melhoradas. O uso de fibras vegetais como carga de reforço em matrizes poliméricas diminui o custo e mantém a qualidade do produto. A boa resistência ao impacto e facilidade no cultivo do sisal foram de interesse para caracterização das fibras utilizando técnicas de infravermelho e UV-Vis por reflectância difusa, com o objetivo de adaptar a metodologia existente e aumentar a adesão fibra-matriz sem danificar as fibras. Para a caracterização morfológica, utilizou-se microscopia eletrônica de varredura. O mapeamento da composição química das fibras foi obtido com o auxílio da espectroscopia de raios X por dispersão de energia. Foram empregados tratamentos à base de NaOH 2% e acetilação com ácido acético e anidrido acético na proporção (1:1,5) e as principais mudanças observadas foram a remoção de impurezas e a menor quantidade de água absorvida na fibra acetilada, o que possibilita uma melhor adesão das fibras com o polímero. Busca-se empregar as fibras na produção de compósitos com polipropileno e polietileno e aplicá-los em peças automotivas como para-choques, tanques de combustível e revestimentos internos.

Palavras-chave: *Compósitos; Fibras de sisal; Acetilação; Tratamento químico.*

ABSTRACT

The development of more resistant and inexpensive materials were important for the emergence of composites, materials that are the result of the mixing of two or more distinct components with improved properties. Vegetable fibers reinforced polymer matrix composites help to reduce costs as well as to preserve product quality. Sisal fibers are important due to good impact resistance and availability. Thus, the characterization used infrared spectroscopy and UV-Vis diffuse reflectance. The main purpose was to adapt the methodology used, in order to improve fiber-matrix adhesion, but without risks of fiber defibrillation. Scanning electron microscopy was used to obtain the morphological characterization and the energy-dispersive X-Ray spectroscopy to describe the elemental chemical composition of the fibers. Chemical treatments using NaOH 2% and acetylation with acetic acid and acetic anhydride in the ratio (1:1,5) were important to observe the main changes such as the removal of impurities and the smaller amount of water absorbed in the acetylated fiber, which allows a better adhesion of the fibers with a polymer. After this, the fibers can be used to the production of polypropylene and polyethylene composites that are expected to apply in automotive parts such as bumpers, fuel tanks and internal coatings.

Keywords: Composites; *Sisal fibers; Acetylation; Chemical treatment.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

Na busca por materiais mais resistentes e com custo mais baixo, muitas pesquisas utilizam matérias-primas naturais que possam ser empregadas na fabricação de materiais denominados compósitos. Compósitos são materiais produzidos a partir da combinação de dois ou mais componentes de naturezas distintas, de modo que o resultado da combinação das propriedades de seus constituintes contribua para melhorar as características do produto final. Um compósito geralmente é formado por duas fases: matriz e fase dispersa. A primeira pode ser um material polimérico, metálico ou cerâmico e envolve a segunda, que podem ser materiais particulados ou fibras. A combinação desses elementos se faz bastante presente em utensílios domésticos, veículos, edifícios, visto que a tecnologia impulsiona o aprimoramento de materiais tradicionais, cujas aplicações para as quais são destinadas não são supridas sem essa associação. Em geral, melhoram as propriedades mecânicas como força, dureza, rigidez do produto e é dito que o reforça (MILTON, 2002).

Os plásticos sintéticos precisaram de mudanças devido ao forte impacto ambiental quanto ao processo de degradação. Vilaplana e colaboradores (2010), citado por Calegari e Oliveira (2016), afirmam que a utilização de materiais biodegradáveis auxilia na diminuição da emissão de poluentes, bem como se tornam alternativas viáveis em relação ao uso dos derivados de petróleo. Com isso, pesquisas envolvendo o uso de fibras naturais como material de reforço na produção de compósitos, tem despertado o interesse na indústria, uma vez que elas possuem baixa densidade, menor abrasividade e podem melhorar a resistência mecânica a um custo menor, quando comparadas ao emprego de fibras sintéticas como a fibra de vidro (CALEGARI e OLIVEIRA, 2016).

Estas fibras naturais podem ser de origem animal, vegetal ou mineral. Existem diversas aplicações para compósitos produzidos à base de fontes renováveis (Figura 1). Por exemplo, embalagens para armazenamento de ovos e frutas produzidas a partir de fibra de coco e amido de mandioca podem substituir as de papelão ou isopor; acessórios para ferramentas de jardinagem à base de gelatina e serragem em substituição ao alumínio e madeira ou ao polipropileno; vasos para mudas de plantas a partir da casca de arroz ou da fibra de coco verde em substituição aos vasos de plástico ou cerâmica, dentre outras.

A exemplo disso, temos os “materiais verdes”, que são importantes quando se trata de inovação e sustentabilidade (MACHADO *et al*., 2014). Considerando o uso destes materiais, nos últimos anos, fibras vegetais estão sendo utilizadas para produção de compósitos e na extração de outras substâncias como a lignina e a celulose, com o objetivo que varia desde aplicações médicas a emprego em áreas como construção civil e mecânica de automóveis (MIRANDA *et al*., 2015).

Segundo Gonçalves et al. (2018), as fibras vegetais possuem aplicações em vários setores como construção civil, indústria naval e automobilística, na área da saúde com os sistemas de liberação controlada de medicamentos à base de fibras, etc. Apresentam diversas vantagens, entre elas, ecológicas e econômicas, pois seus resíduos são facilmente absorvidos pela natureza, além da geração de empregos na economia local. Sua produção requer pouca energia e também possibilita a fabricação de materiais mais leves e resistentes, além de liberarem pouco dióxido de carbono ao meio ambiente quando expostas a processos de incineração ou compostagem.

Por outro lado, por absorverem água facilmente, as mesmas podem ser atacadas por fungos e bactérias, o que pode afetar o desempenho mecânico do compósito e implica na necessidade de tratamentos químicos que possam melhorar sua hidrofobicidade, consequentemente melhorando a sua adesão quando empregadas na produção de compósitos de matriz polimérica. (CARVALHO e CAVALCANTI, 2006). Outra desvantagem no uso de fibras vegetais lignocelulósicas é a limitação da faixa de temperatura (em torno de 220°C), que implica em perda de massa e na degradação do material, com a queima da própria fibra. (MARINELLI *et al.,* 2008)

As fibras vegetais podem ser duras ou moles e esta classificação é dada de acordo com o local de obtenção e também pela quantidade de lignina presente nas paredes secundárias. As fibras duras são obtidas dos feixes vasculares das folhas e possuem textura rígida e geralmente possuem teor de lignina superior ao das fibras macias. A principal aplicação é na fabricação de cordas, tapetes e tecidos grosseiros (LEVETIN e

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

MCMAHON, 2016). De acordo com o site Só Biologia, podemos citar como exemplos as fibras de bambu, cana-de-açúcar, milho, banana, capim, trigo, coco e sisal. Por outro lado, as fibras macias são obtidas das hastes e são mais flexíveis e elásticas, com destaque para o linho, rami, eucalipto, mamona e soja.

Considerando o uso de fibras vegetais como materiais de reforço na produção de compósitos poliméricos, podemos citar algumas cultivadas no país e que são utilizadas na elaboração de novos materiais: coco, juta, sisal, bagaço da cana-de-açúcar, bambu, rami, soja, açaí, curauá, abacaxi, linho, miriti, algodão, entre outras (MARINELLI *et al.,* 2008). Isto reduz a quantidade de polímero empregada, uma vez que a maioria dos polímeros é oriunda de derivados do petróleo. Além de ser uma alternativa economicamente viável, diminuindo inclusive o êxodo rural, atende à maioria das exigências em suas propriedades mecânicas, térmicas, elétricas e, em muitos casos, ocasiona melhorias nestas propriedades (ROSÁRIO *et al.,* 2011).

O sisal (*Agave Sisalana*) é uma planta oriunda do México e que tem vasta aplicação, principalmente no que se refere ao uso de suas fibras (Figura 2). Chegou ao Brasil no início do século XX através do estado da Bahia. É considerada a fibra dura mais comercializada no mundo, sendo o Brasil um dos maiores exportadores. Além disso, é responsável por manter a economia local de diversos lugares devido ao processo de beneficiamento, que se inicia desde o cultivo da planta e se estende até a comercialização da fibra (MARTIN *et al.*, 2009).

De acordo com Medeiros e colaboradores (2016), os principais produtores de sisal no Brasil se localizam na região Nordeste divididos entre: Bahia, com 95,8% da produção total; Paraíba com 3,5%, Ceará com 0,4% e Rio Grande do Norte com 0,3%. Em 2016, o valor mínimo que o Governo Federal estabelecia era de R$ 1,73/kg. Atualmente, de acordo com os dados obtidos em consulta no site do Ministério da Fazenda, o valor mínimo da fibra bruta beneficiada passou a ser R$ 2,04/kg, mais barata quando comparadas a outras fibras como juta (R$ 2,54/kg; Região Norte) e piaçava (R$ 2,47/kg; Bahia e Região Norte). Estes valores foram estabelecidos em portaria regulamentada pelo próprio ministério e vigoraram entre junho de 2017 e junho de 2018. Já o valor do polipropileno virgem ficou na média de R$ 7,92/kg, o que justifica o interesse de muitas indústrias em reduzir os custos com o polímero sem perder as boas propriedades que ele fornece aos materiais (PIRAMIDAL, 2018).

Wambua *et al.* (2003) estudaram o comportamento mecânico de compósitos de matriz de polipropileno com algumas fibras naturais e o sisal se destacou como a fibra que apresentou o melhor desempenho em relação à absorção de impacto. Em 2010, um levantamento feito por estudantes da Universidade do Porto (Portugal) mostrou que na indústria automobilística utiliza-se bastante o polipropileno e o polietileno na fabricação de peças como para-choques, painéis, tanques de combustível, sistemas de ar condicionado, *airbag*, revestimento da cabine, reservatório de água para limpeza do para-brisas, etc. A vantagem da utilização destes materiais é que reduzem a massa utilizada, de modo que a cada 300 kg de materiais tradicionais usados, só se utiliza 100 kg de polímeros para a produção da mesma quantidade de peças, reduzindo os custos com a produção e melhorando o uso dos espaços, além da economia de combustível (HEMAIS, 2003). Os compósitos poliméricos produzidos a partir do uso de fibras vegetais estão sendo utilizados nestas mesmas aplicações, com o objetivo de reduzir ainda mais os custos com a produção sem provocar perdas nas propriedades do novo material, além de facilitar o seu processo de degradação em casos de descartes inadequados.

Desde o início da década de 2000, o surgimento de novos materiais com maiores resistências à umidade, corrosão, erosão levaram ao desenvolvimento de novos plásticos como em alguns cones de exaustão de aeronaves, portas dos trens de aterrissagem, na fabricação de paraquedas, entre outros. A substituição de componentes metálicos de aeronaves por compósitos poliméricos, além de reduzir a massa da aeronave, possibilitou a redução no custo com as peças bem como melhorou a resistência ao impacto, à umidade e ao calor (REZENDE e BOTELHO, 2000).

Considerando as boas propriedades mecânicas que a inserção das fibras provoca no produto desejado, o objetivo deste trabalho foi analisar a modificação superficial de fibras de sisal, para uso posterior na fabricação de compósitos de matriz polimérica como polietileno e polipropileno. A partir destes materiais, deseja-se investigar a tensão máxima suportada e sua resistência ao impacto, para que possam ser

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

utilizados na fabricação de para-choques e tanques de combustível de automóveis, uma vez que as atenda às exigências dos fabricantes e reduza os custos com a produção. O processo de caracterização utilizou técnicas de infravermelho (FTIR), UV-Vis por Reflectância Difusa, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e mapeamento por espectroscopia de raios X por dispersão de energia (EDS) para determinar a composição elementar.

PARTE EXPERIMENTAL

A fibra vegetal utilizada como matéria-prima para o desenvolvimento deste trabalho foi a fibra de sisal da espécie *Agave Sisalana*, adquirida em estabelecimentos comerciais na forma de rolo de corda. O procedimento experimental foi realizado no Laboratório de Mecânica da Fratura e Fadiga (LAMEFF), vinculado ao Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da Universidade Federal do Ceará (UFC). A corda foi desfiada, de modo a separar as fibras uma por uma. Em seguida, foram cortadas no tamanho de 20 cm. A escolha do tamanho foi atribuída a adaptação de metodologia já utilizada em estudos anteriores por pesquisadores do LAMEFF (DE MELO, 2016). Após a separação e corte das fibras, estas foram divididas em dois grupos: uma parte foi submetida ao tratamento químico e a outra não foi tratada.

2.1. Tratamento Químico das Fibras

Além do baixo custo na obtenção de fibras vegetais, a possibilidade de modificação por meio de tratamentos químicos, torna cada vez mais comum a utilização como agente de carga e reforço em compósitos com matrizes poliméricas. Para melhorar a adesão das fibras com uma matriz, em especial, polimérica, é preciso submeter às fibras a alguns tipos de tratamento químico, com destaque para a mercerização e a acetilação. Estes tratamentos modificam a superfície da fibra e também alteram suas propriedades mecânicas como tensão, módulo de elasticidade e alongamento na ruptura (ALBINANTE *et al*., 2012).

2.1.1 Processo de lavagem

Em se tratando da composição química das fibras naturais, a maior parte é composta por celulose, hemicelulose e lignina, além de gorduras e ceras (ALBINANTE *et al*.,2012). Para remover o excesso dessas substâncias, as fibras precisam ser lavadas antes de qualquer tipo de tratamento químico. Desta forma, esta etapa consistiu na imersão das fibras em água destilada à 80°C durante uma hora. Após a lavagem, foram secadas em uma estufa à 60°C. Esse processo de lavagem foi repetido intercalando entre os processos de mercerização e acetilação. A principal característica observada durante esse processo foi a mudança na coloração da água que era descartada, indicando a eliminação principalmente de lignina e hemicelulose.

2.1.2 Mercerização

Foram imersos 10 g de fibras de sisal em 250 mL de solução de NaOH 2%, à temperatura de 60°C e sob agitação constante durante uma hora. Este processo visa remover substâncias que são solúveis em ambiente alcalino. Repetiu-se o procedimento outras duas vezes e, entre as repetições, as fibras foram lavadas como descrito no item acima, até atingir a neutralidade com pH=7 (JESUS *et al*., 2015).

2.1.2 Acetilação

De acordo com o artigo de Li e colaboradores (2007), a acetilação de fibras naturais é um tipo de tratamento químico que consiste na modificação da parede celular da fibra, de modo que a substituição dos grupos hidroxilas (-OH) pelo grupo acetil ($CH_3COO–$) seja capaz de tornar a fibra hidrofóbica, reduzindo a higroscopicidade e melhorando a adesão interfacial fibra-matriz. Contudo, para que este processo aconteça é preciso antes que as fibras sejam tratadas em meio alcalino por meio da mercerização. Para a realização do procedimento de acetilação das fibras, a metodologia foi adaptada de D'Almeida e colaboradores (2005). Após mercerizadas, as fibras foram imersas em uma solução de ácido acético e anidrido acético na proporção (1:1,5), com adição de 5 gotas de ácido sulfúrico (H_2SO_4) para 250 mL de solução, à temperatura de 80°C. Esta adaptação ocorreu porque em temperaturas mais elevadas a fibra sofreu mais degradação que o necessário. Após acetiladas, as fibras foram lavadas como descrito no processo de lavagem e secadas em estufa à 60°C.

2.2. Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Os espectros foram obtidos em um equipamento IRTracer-100 na faixa de 400 a 4000 cm^{-1} com uma resolução de 1 cm^{-1}. As amostras foram colocadas na forma de filme pulverizado e prensadas em pastilha de KBr. A técnica indica as vibrações moleculares existentes na amostra analisada e auxilia na identificação de grupos funcionais mostrando suas bandas de absorção na região do infravermelho no espectro eletromagnético. As fibras foram analisadas antes, durante e depois dos tratamentos químicos de modo a observar a presença ou ausência de grupos funcionais característicos (HOLLER *et al.*, 2009).

2.3. UV-Vis Por Reflectância Difusa

Os espectros de UV-VIS foram obtidos em um equipamento espectrofotômetro UV-Vis, modelo *Shimadzu UV-2600* com esfera integradora *ISR-2600 Plus* e foram traçados no comprimento de onda de 200 a 500 nm, usando cubeta de quartzo com um percurso óptico de 1 cm. O próprio software integrado ao equipamento forneceu os dados de reflectância e absorbância em função do comprimento de onda, conhecido como *Kubelka Munk* (SÁENZ-TREVIZO *et al.*, 2016). Foram analisadas as fibras de sisal sem tratamento (natural), tratadas com NaOH 2% e acetiladas. A partir destes dados foi possível obter a energia de "*band gap*" bem como identificar algumas transições eletrônicas características de algum dos constituintes do material.

2.4. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS)

Para analisar a morfologia da superfície das fibras, as micrografias obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foram realizadas na Central Analítica da UFC. O microscópio utilizado foi o *Inspect S5-FEI* para a avaliação da superfície antes e depois do tratamento químico. As amostras foram coladas junto ao *stub* com fita de carbono de dupla colagem e cobertas com Au usando uma metalizadora QT150 ES-Quorum, possibilitando a análise em MEV de alta tensão, pois havia necessidade de descarga dos elétrons que atingiram o material sem riscos de degradá-lo. Ajustando o MEV para 20,00 kV, foram analisadas a superfície das fibras para aumentos variando entre 100 e 3.000 vezes.

Para verificar os componentes da fibra de sisal, foi realizada uma análise por EDS. A técnica é válida para determinar elementos de número atômico maior que 11 e engloba um acessório de um microscópio eletrônico que consiste em determinar quais elementos químicos podem estar presentes em uma amostra. Baseia-se em um feixe de elétrons que incide sobre uma amostra, excitando os elétrons e liberando energia da ordem de comprimento dos raios X, permitindo gerar o mapeamento da composição da amostra, uma vez que cada elemento possuir um valor característico de energia. (SOTO, 2015).

2.5 Ensaio de intumescimento

Com a finalidade de se verificar os efeitos dos tratamentos químicos sobre a capacidade de sorção de água pelas fibras, realizou-se um ensaio de intumescimento. Para isso, as fibras natural, mercerizadas e acetiladas inicialmente foram pesadas em uma balança semianalítica. Em seguida, foram imersas em água e em intervalos de tempo pré-determinados, as mesmas eram retiradas e após a remoção do excesso de água eram pesadas novamente. O grau de intumescimento (G.I) foi calculado pela diferença entre a massa da fibra úmida ($M_{úm}$) e a massa da fibra seca (M_{seca}) dividida pela massa da fibra seca (M_{seca}) de acordo com a Eq.1 (CRUZ *et al.*, 2016).

$$G.I.\ (\%) = [M_{úm} – M_{seca} / M_{seca}] \times 100 \qquad \text{(Eq. 1)}$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

O objetivo de caracterizar as fibras e submetê-las ao tratamento químico foi para que possam ser usadas na produção de compósitos. Compósitos são materiais constituídos por componentes de naturezas distintas com propriedades intermediárias resultantes de uma combinação destes materiais, de modo que ambos os componentes contribuam para melhorar as características do produto final. Em geral, há melhoria nas propriedades mecânicas como o aumento na força, dureza, rigidez do produto e é dito que o reforça. Geralmente são formados por duas fases: matriz e fase dispersa. A primeira pode ser um material polimérico, metálico ou cerâmico e envolve a segunda que podem ser materiais particulados ou fibras. A combinação desses elementos se faz bastante presente, visto que a tecnologia impulsiona o aprimoramento de materiais tradicionais cujas

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

aplicações para as quais são destinadas não são supridas sem essa associação (NETO e PARDINI, 2006).

Segundo Mohan e Kanny (2012), o processo de mercerização é o tratamento químico mais utilizado com a finalidade de melhorar a adesão entre a fibra e a matriz. Favaro et al. citado por estes autores estudaram a modificação na superfície da fibra e observaram que a modificação é atribuída ao grupo hidroxila da celulose presente. Logo, este estudo foi importante para identificar os principais grupos funcionais presentes e/ou ausentes nas fibras de sisal natural, tratada com NaOH 2% e acetilada com ácido acético e anidrido acético na proporção (1:1,5) com adição de gotas de H_2SO_4 concentrado como catalisador.

3.1 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

Os espectros de infravermelho forneceram algumas bandas de absorção características de estiramentos ou deformações e comprovaram a eficiência dos tratamentos químicos (Figura 3). Na fibra natural a banda de 1047 cm^{-1} foi atribuída as deformações nos acoplamentos C-H e C-O. Os picos em 560 cm^{-1} e 897 cm^{-1} corresponderam a deformação C-OH e as ligações β-glicosídicas existentes na hemicelulose (Lu *et al*. 2003 citado por Lopes *et al.,* 2009).

As vibrações em 1246 cm^{-1} e 1318 cm^{-1} foram atribuídas ao estiramento C-O e ao grupo acetil na lignina e hemicelulose. As bandas em 1371 cm^{-1} e 1427 cm^{-1} indicaram deformação C-H presente na celulose e hemicelulose e deformação C-H lignina, respectivamente. Em 2920 cm^{-1} tivemos deformações axiais nas ligações C-H alifáticas e 2858 cm^{-1} grupos $–CH_2$ associados à celulose e hemicelulose. Outro pico importante relacionado à estrutura da lignina foi em 1509 cm^{-1}, correspondente a um estiramento C=C do anel aromático. Na fibra natural, a banda em 1737 cm^{-1} foi referente ao estiramento C=O na ligação éster na estrutura da hemicelulose. Houve uma diminuição na intensidade destas bandas, em especial do estiramento OH referente a hidroxila da água, diminuindo a capacidade de absorção de água, sendo mais evidente no processo de acetilação (SANJAY *et al.,* 2018).

Podemos justificar a ausência das bandas de absorção 1246 cm^{-1} e 1737 cm^{-1} observadas no espectro de infravermelho da fibra mercerizada por conta da hidrólise alcalina que ocorre, na qual a lignina foi removida parcialmente, tornando a parede celular da fibra menos rígida (MIRANDA *et al*., 2015). Houve desaparecimento das bandas 1246 cm^{-1} referente a C-O lignina e 1738 cm^{-1} C=O hemicelulose (MOURA *et al.,* 2016). Na fibra acetilada, as bandas 1236 cm^{-1} e 1756 cm^{-1} surgiram mais acentuadas e isto foi atribuído aos estiramentos dos grupos C-O-C e C=O. Isto indicou que o grupo acetil foi inserido nas fibras, modificando-as quimicamente.

3.2 UV-Vis por Reflectância Difusa

Em se tratando de cadeias de polímeros temos que muitos são conjugadas, isto é, alternam sequências de ligações simples e duplas. Assim, temos elétrons desemparelhados que constituem bandas de energia devido aos processos de oxidação ou redução que ocorrem nas cadeias poliméricas (PADILLA, 2011).

A lignina presente nas fibras possui banda de absorção máxima em 280 nm e a coloração da fibra é em função dessa absorção da luz pela lignina (PASTORE *et al.,* 2008). A banda em 286 nm (Figura 4) equivale a transição eletrônica $\pi \rightarrow \pi^*$ correspondente ao anel aromático de unidades fenólicas não-conjugadas relacionadas à estrutura química da lignina (MING-FEI *et al.,* 2012). A remoção da lignina é fundamental, uma vez que em sua cadeia polimérica há muitas conjugações e isto poderia diminuir o valor de "*band gap*", devido aos elétrons π existentes. As transições eletrônicas do espectro vibracional estão relacionadas ao respectivo nível eletrônico, de modo que quanto maior conjugação, menor a energia de "*band gap*" e maior o momento de dipolo de transição (VISSOTO, 2015).

A introdução do sódio devido ao processo de mercerização faz com que o valor de "*band gap"* diminua, uma vez que em solução aquosa o NaOH se dissocia liberando os íons Na^+ e OH^-. Com a acetilação, a fibra tem seu caráter covalente aumentado, o que justifica o elevado valor de "*band gap*", característica de um material isolante. A acetilação provocou a retirada dos grupos tornando maior a hidrofobicidade e alterando as interações eletrostáticas (remoção de impurezas com natureza condutora), elevando o caráter

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

covalente.

Os valores de comprimento de onda obtidos na tabela foram calculados a partir de uma reta tangente colocada no ponto de menor absorção no espectro de reflectância (Figura 5). Esse valor foi substituído na equação E_{gap} = 1240/ λ e então encontrou-se os valores para a energia das bandas (Tabela 1). Os resultados obtidos com os valores de "*band gap*" complementaram as demais análises mostrando que o tratamento nas fibras possibilitou a retirada de impurezas e de estruturas muito conjugadas, aumentando o caráter covalente e possibilitando a fibra uma melhor adesão superficial com uma matriz polimérica (MORO *et al.*, 2012).

3.3 Análise da superfície por Microscopia Eletrônica de Varredura

A partir das micrografias eletrônicas obtidas na Central Analítica da UFC, foi possível observar as diferenças entre a superfície das fibras tratada e não tratadas (LOPES *et al.*, 2009). A análise morfológica levou em consideração os parâmetros utilizados por Faria *et al.* (2017). Informações como tamanho dos poros e rugosidade, considerando o tipo de tratamento empregado na fibra. Observando as micrografias obtidas notou-se que a fibra natural apresentava células parenquimatosas e em algumas partes da superfície havia aspecto rugoso e impurezas incrustadas, o que pôde ser atribuído aos resíduos como óleos e ceras que foram removidos apenas com tratamento químico (Figura 6).

Contudo, a fibra mercerizada mostrou uma superfície com mais poros e rugosidade maior se comparada à fibra não tratada (Figura 7). Isto ocorreu devido a remoção de muitos componentes da fibra, com destaque para a remoção parcial da lignina. Durante o processo de lavagem que intercalava a etapa de mercerização, a coloração da água de descarte foi mais escura até o momento em que estabilizou e não mudou de cor.

No caso da fibra acetilada, o principal objetivo foi tornar a fibra mais hidrofóbica, uma vez que se introduziu o grupo acetil. Quanto à superfície foi mais lisa e uniforme, com menos poros e menor rugosidade, o que caracterizou uma fibra com maiores possibilidades de adesão a uma matriz polimérica, uma vez que sua polaridade foi reduzida (Figura 8).

3.4 Análise do Mapa de Composição Química por EDS

Através do mapa de elementar por EDS, foi percebido que a fibra natural apresentou C e O como seus principais constituintes, mas apareceram também K, Ca, Mg em pequenas quantidades, caracterizando impurezas (Figura 9). Estes elementos não fazem parte dos principais constituintes (lignina, celulose e hemicelulose) e estão associados aos nutrientes existentes no local de cultivo (BUITRAGO *et al.,* 2015). Também foi observado, em quantidade pouco significante, Si, Al, Fe, mas os valores permaneceram dentro do intervalo de ruído do equipamento. Com o tratamento alcalino à base de NaOH, uma parcela dessas impurezas começou a desaparecer e surgiu no espectro um pico para o Na, oriundo do NaOH (Figura 10). Com o processo de acetilação, as impurezas que apareciam na fibra natural, assim como sódio introduzido na mercerização foram removidos (Figura 11). O Au foi usado como cobertura e é associado ao processo de metalização da amostra. Mesmo com o tratamento, os percentuais de C e O pouco variaram entre as amostras.

3.5 Resultados do Ensaio de Intumescimento

Desta forma, foi possível analisar a absorção de água e verificar os efeitos dos tratamentos sobre a higroscopicidade das fibras, de modo a reforçar os resultados obtidos através das outras técnicas de caracterização. O ensaio durou 24 horas e foram observadas as massas com os tempos de imersão de 1h, 2h, 3h, 4h, 10h, 12h e 24h. Observou-se que a partir da medida de 3 horas a massa de água absorvida se estabiliza e permanece constante até o final do ensaio (Tabela 2). Quanto menor o índice de absorção de água, maior a hidrofobicidade da fibra, o que implica que os grupos polares foram removidos, proporcionando melhorias na adesão com uma matriz polimérica para a produção de compósitos. Isto se comprovou, visto que a fibra acetilada apresentou a menor permeabilidade (55,5% de absorção de água) se comparada a fibra mercerizada (66,7% de absorção de água) e a fibra natural (77,8% de absorção de água).

CONCLUSÕES:

Durante o processo de acetilação das

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

fibras, a metodologia teve de ser readaptada com relação à temperatura e o tempo de exposição das fibras. Isto, porque nas primeiras fibras houve mais desfibrilação e os microfilamentos tornaram-se mais visíveis, de modo que a fibra sofreu mais degradação que o necessário. Com a técnica de microscopia eletrônica de varredura, foi possível caracterizar as modificações sofridas na superfície da fibra quando tratadas quimicamente. Esse processo foi feito buscando extrair informações que justificassem o uso da fibra de sisal como carga de reforço em compósitos com matriz polimérica de polipropileno virgem para possíveis aplicações na fabricação de peças automotivas.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer à Central Analítica UFC/CT-INFRA/MCTI-SISNANO/Pró-Equipamentos CAPES pelo suporte técnico nas análises de microscopia eletrônica e EDS; ao Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da UFC pelas análises de infravermelho e UV-Vis, e a CAPES, pelo auxílio financeiro com a concessão de bolsa de estudos ao autor correspondente.

REFERÊNCIAS:

1. Milton, G. W.; The Theory of Composites, Cambridge University Press: Cambridge, 2002.

2. Calegari, E. P.; de Oliveira, B. F.; Sustentabilidade em Debate, **2016**, 7, 140.

3. Materiais plásticos sustentáveis. Matéria Brasil, Disponível em: <http://www.materiabrasil.com/materials>. Acesso em 13 jun. 2018.

4. Machado, Bruna A. S.; Reis, J. H. O.; da Silva, J. B.; Cruz, L. S.; Nunes, I. L.; Pereira, F. V.; Druzian, J. I.; Quim. Nova, **2014**, 37,1275.

5. Miranda, C. S.; Fiuza, R. P.; Carvalho, R. F.; José, N. M.; Quim. Nova, **2015**, 38, 161.

6. Gonçalves, F. A. C.; Amaral, E. L. S.; Lopes Júnior, J. L.; Lopes, B. L. S.; Ribeiro Júnior, L. S.; Brabo, D. R.; Amarante, C. B.; Revista Espacios, **2018**, 39, 12.

7. Carvalho, L. H. C.; Cavalcanti, W. S.; Polímeros: Ciência e Tecnologia, **2006**, 16, 33.

8. Marinelli, A. L.; Monteiro, M. R.; Ambrósio, J. D.; Branciforti, M. C.; Kobayashi, M.; Nobre, A. D.; Polímeros: Ciência e Tecnologia, **2008**, 18, 92.

9. Levetin, E.; McMahon, K.; Plants & Society, 7th ed., McGraw-Hill Education: New York, 2016.

10. Só Biologia. Disponível em: <https://sobiologia.com.br/conteúdos/Reinos4/angiospermas2.php>. Acesso em 13 jun. 2018.

11. Rosário, F.; Pachekoski, W. M.; Silveira, A. P. J.; dos Santos, S. F.; Júnior, H. S.; Casarin, S. A.; Polímeros: Ciência e Tecnologia, **2011**, 2, 90.

12. Nossa Ciência. Disponível em: <http://nossaciencia.com.br/noticias/pesquisadores-da-paraiba-testam-extrato-de-sisal-contra-o-aedes-aegypti/>, Acesso em 14 jun. 2018.

13. Martin, A. R.; Martins, M. A.; Mattoso, L. H. C.; Silva, O. R. R. F.; Polímeros: Ciência e Tecnologia, **2009**, 19, 40.

14. Medeiros, D. L.; Tavares, A. O. C.; Rozados, I. L. G.; dos Santos, E. S.; Viana, J. D., Rev. Virtual Quim., **2016**, 8, 1166.

15. Tabela de Preços Mínimos Vigentes. Brasil, Ministério da Fazenda. Disponível em: <www.fazenda.gov.br/centrais-de-conteudos/publicacoes/conjuntura-economica/agricola/2018/tabela-de-precos-minimos-vigentes>. Acesso em 14 jun. 2018.

16. Piramidal, Preço do PP. Disponível em: <http://lojapiramidal.com.br/fabricante/4-braskem.aspx>, Acesso em 14 jun. 2018.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

17. Wambua, P.; Ivens, J.; Verpoest, I.; Composites Science and Technology, **2003**, 63, 1259.

18. Materiais usados na concepção de um automóvel. Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto. Disponível em: <https://web.fe.up.pt/~projfeup/cd_2010_11/files/MMM508_relatorio.pdf>. Acesso em 16 jun. 2018.

19. Hemais, C. A.; Polímeros: Ciência e Tecnologia, **2003**, 13, 107.

20. Rezende, M. C.; Botelho, E. C.; Polímeros: Ciência e Tecnologia, **2000**, 10, E4.

21. de Melo, S. L. S.; Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Ceará, Brasil, 2016.

22. Albinante, S. R.; Pacheco, E. B. A. V.; Visconte, L. L. Y.; Quim. Nova, **2013**, 36, 114.

23. Jesus, M. S.; Sousa, T.B.; Mori, F. A.; Guimarães, B. M. R.; O Papel, **2015**, 76, 61.

24. Li, X.; Tabil, L. G.; Panigrahi, S.; J Polym Environ, **2007**, 15, 25.

25. d'Almeida, A. L. F. S.; Calado, V.; Barreto, D. W.; d'Almeida, J. R. M.; Polímeros: Ciência e Tecnologia, **2005**, 15, 59.

26. Holler, F. J.; Skoog, D. A.; Crouch, S. R.; Princípios de Análise Instrumental, 6ª ed., Bookman: Porto Alegre, 2009.

27. Sáenz-Trevizo, A.; Amézaga-Madrid, P.; Pizá-Ruiz, P.; Antúnez-Flores, W.; Yoshida-Miki, M.; Materials Research, **2016**, 19, 33.

28. Soto, I. I.; Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, Brasil, 2015.

29. da Cruz, J. B.; de Sá Catão, C. D.; Barbosa, R. C.; Fook, M. V. L.; Revista Matéria, **2016**, 21, 129.

30. Neto, F. L.; Pardini, L. C.; Compósitos Estruturais – Ciência e Tecnologia, 1ª ed., Edgard Blücher: São Paulo, 2006.

31. Mohan, T. P.; Kanny, K.; Composites: Part A, **2012**, 43, 1989.

32. Lopes, F. F. M.; de Araújo, G. T.; do Nascimento, J. W. B.; Gadelha, T. S.; da Silva, V. R.; Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, **2010**, 14, 783.

33. Sanjay, M. R.; Madhu, P.; Jawaid, M.; Senthamaraikannan, Senthil, S.; Journal of Cleaner Production, **2018**, 172, 566.

34. Moura, P. E. V.; Batista, M. V. S.; Mac Leod, T. C. O.; Anais do 22°CBECimat – Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, Natal, Brasil, 2016.

35. Padilla, R. M. A.; Tese de Doutorado, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro – PUC-RIO, Brasil, 2011.

36. Pastore, T. C. M.; de Oliveira, C. C. K.; Rubim, J. C.; Santos, K. de O.; Quim. Nova, **2008**, 31, 2071.

37. Li, M.F.; Sun, S.N.; Xu, F.; Sun, R.C.; Chemical Engineering Journal, **2012**, 179, 80.

38. Vissoto, J. F. T.; Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, Brasil, 2015.

39. Moro, C. C.; Lansarin, M. A.; Bagnara, M.; Quim. Nova, **2012**, 35, 1560.

40. de Faria, P. C.; Martin, A. A.; Alves, N. P.; Revista Matéria, **2017**, 22.

41. Buitrago, B.; Jaramillo, F.; Gómez, M.; Journal of Natural Fibers, **2015**, 12, 357.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil



Fonte: Matéria Brasil.

Figura 1. *Exemplos de materiais compósitos a partir de fibras vegetais: vaso de planta (à esquerda) e caneca em plástico polipropileno (à direita) à base de fibra de coco.*



Fonte: Nossa Ciência.

Figura 2. Espécie de *sisal (Agave Sisalana) da qual se extraem as fibras.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

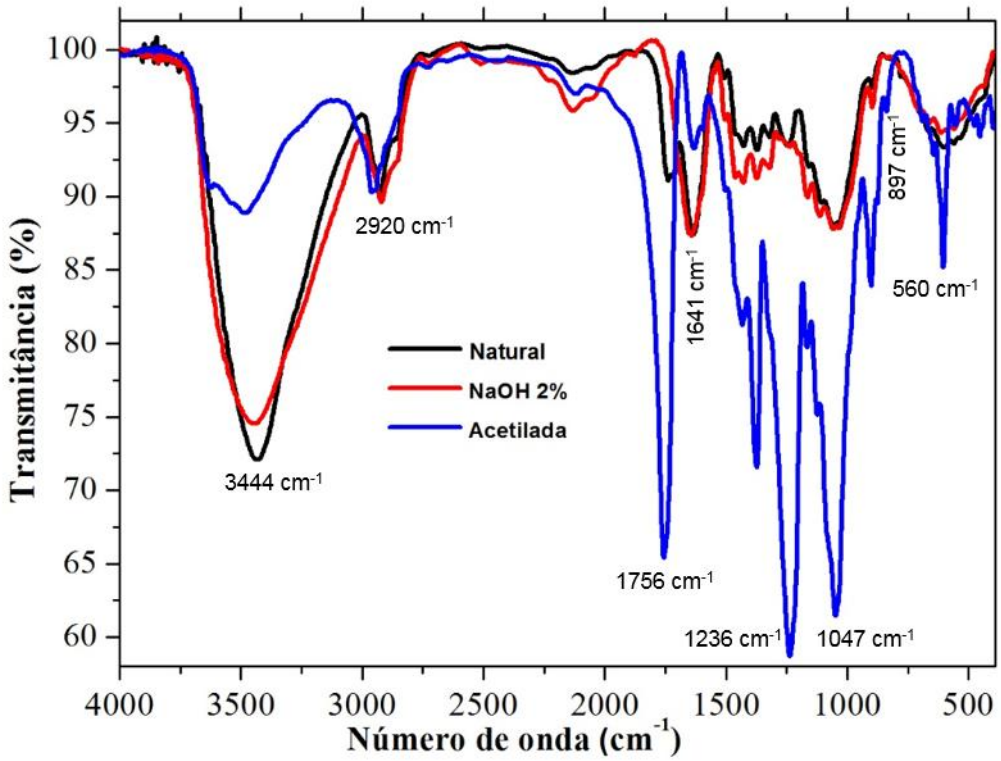


Figura 3. *Espectro de infravermelho com as bandas para as fibras de sisal natural, tratada com NaOH 2%e acetilada.*

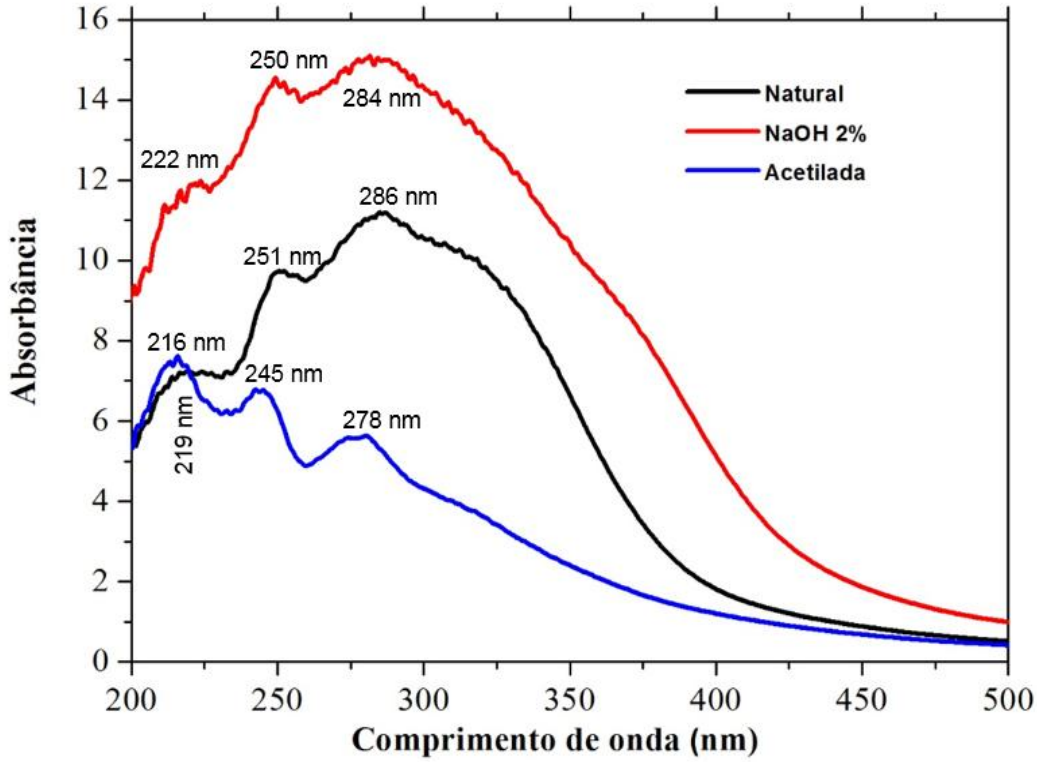


Figura 4. *Espectro de UV-Vis obtido por Reflectância Difusa usando o método de Kubelka-Munk.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

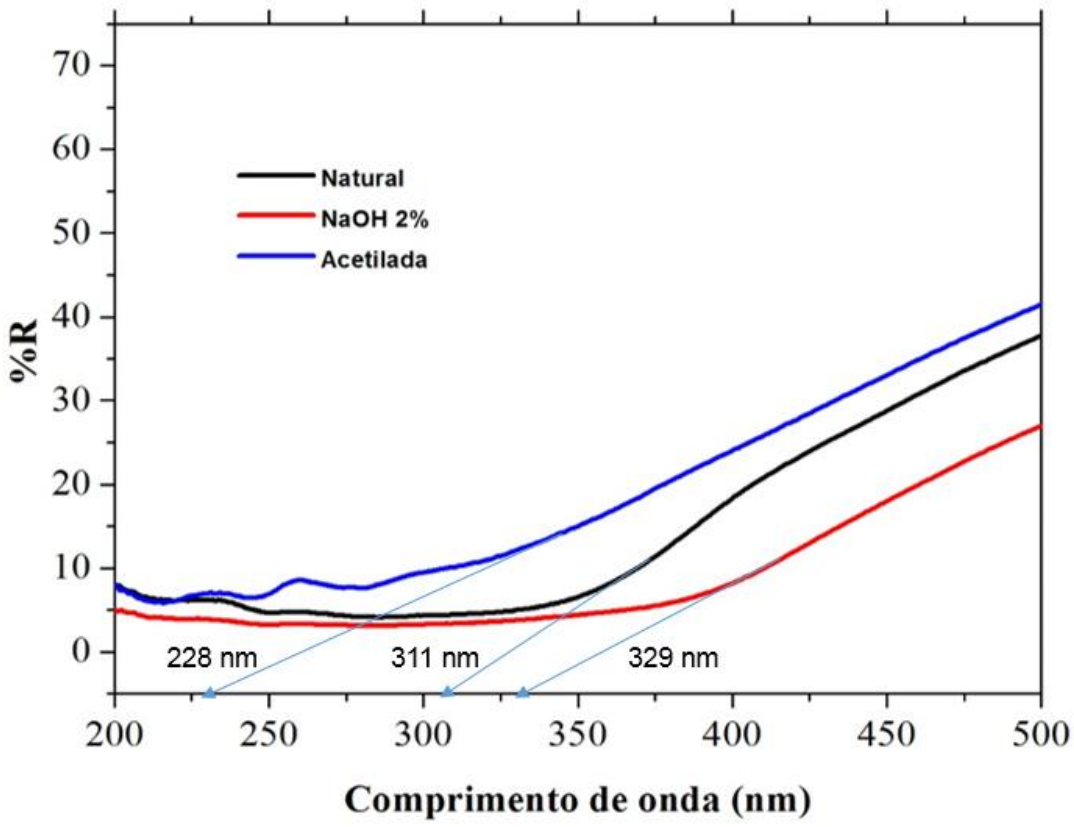


Figura 5. *Espectro de UV-Vis obtido por Reflectância Difusa, com os valores mínimos de absorção obtidos traçando uma reta tangente para o cálculo da energia de "band gap".*

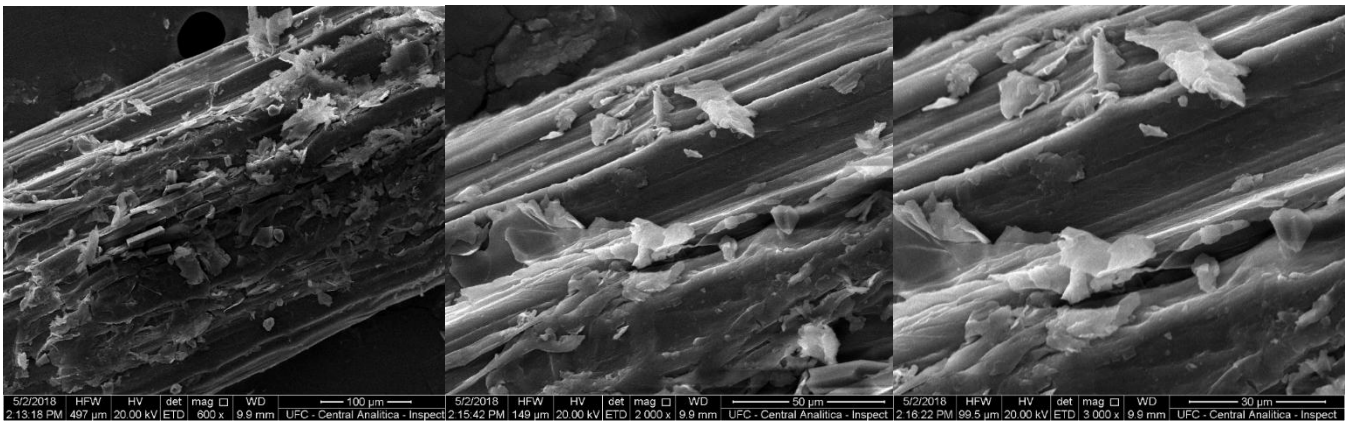


Figura 6. *Micrografias obtidas em microscópio eletrônico de varredura para a fibra de sisal natural em aumentos de 600, 2000 e 3000 vezes.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

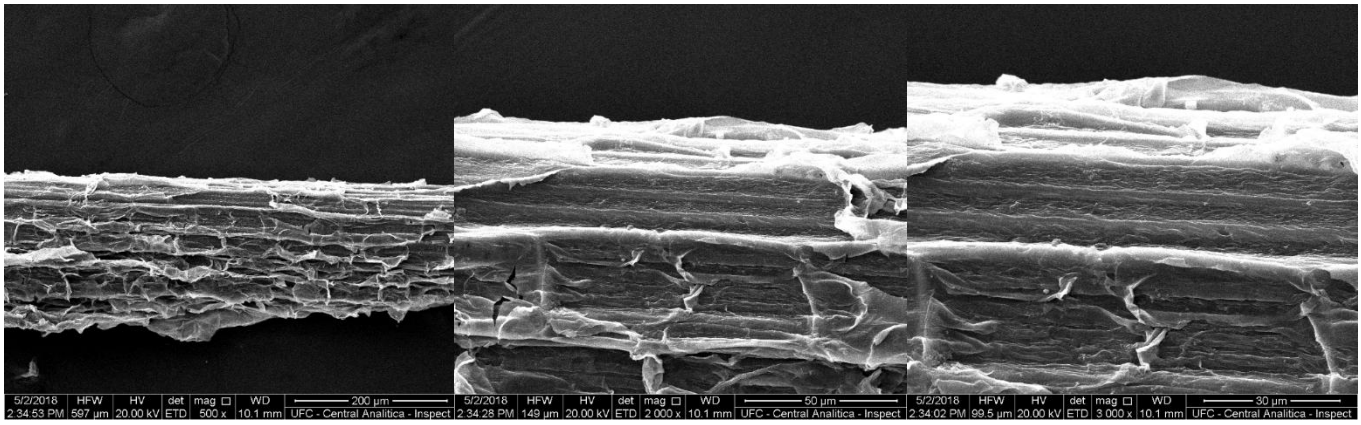


Figura 7. *Micrografias obtidas em microscópio eletrônico de varredura para a fibra de sisal tratada com NaOH 2% em aumentos de 500, 2000 e 3000 vezes.*

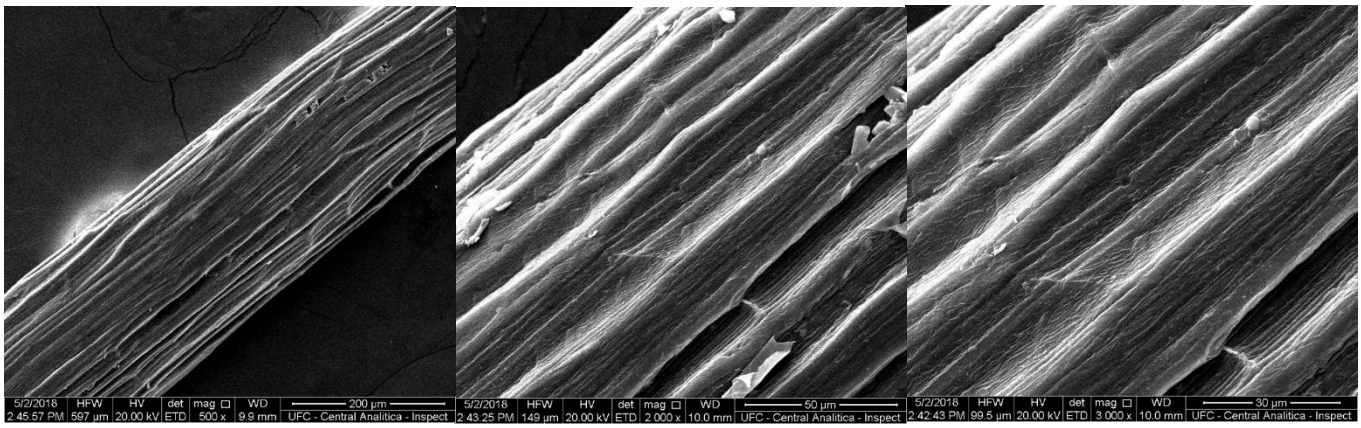


Figura 8. *Micrografias obtidas em microscópio eletrônico de varredura para a fibra de sisal tratada com ácido acético e anidrido acético na proporção (1:1,5) em aumentos de 500, 2000 e 3000 vezes.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

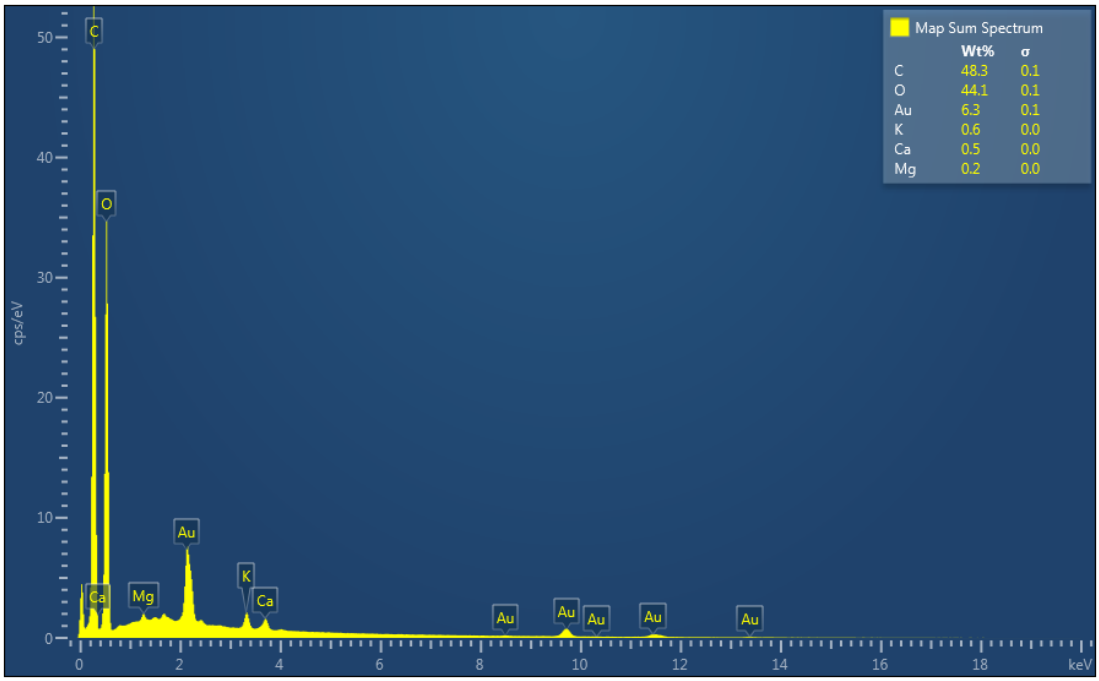


Figura 9. *Mapeamento de EDS mostrando a composição química da fibra de sisal natural.*

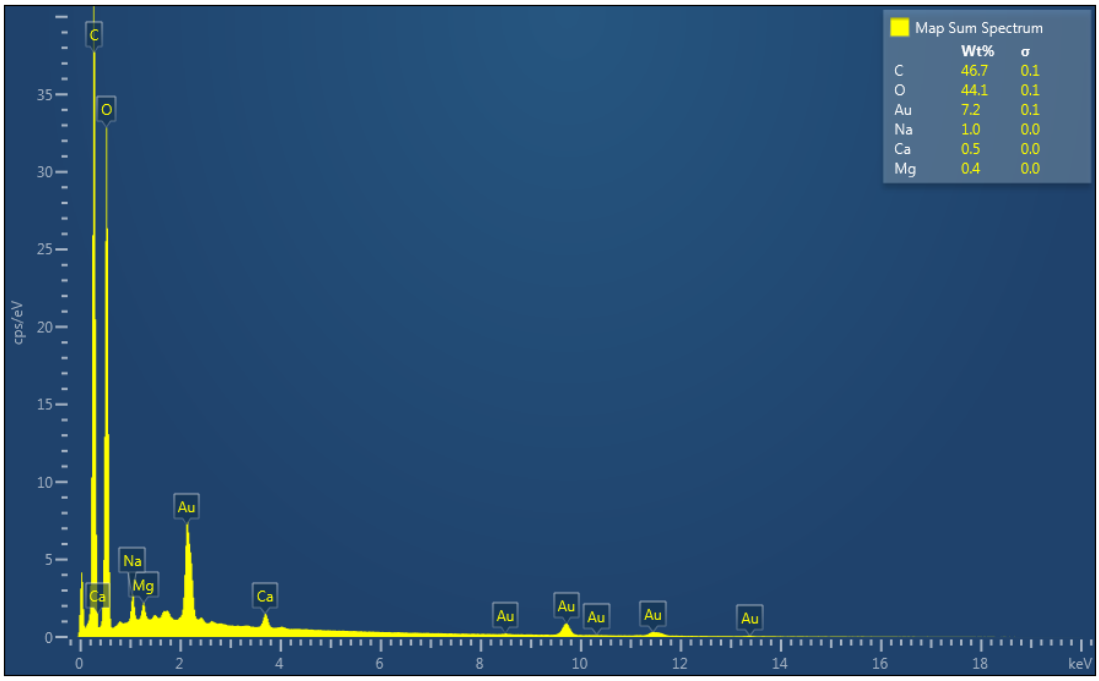


Figura 10. *Mapeamento de EDS mostrando a composição química da fibra de sisal quando submetida ao tratamento com NaOH 2%. Note que o elemento sódio (Na) surge no espectro.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

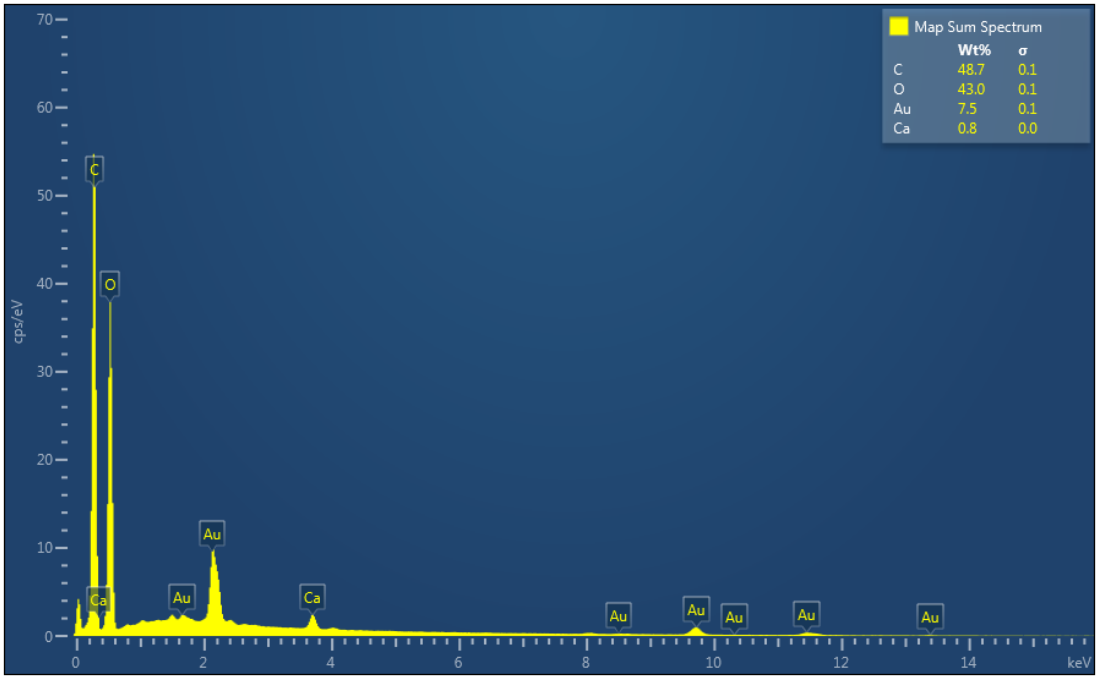


Figura 11. *Mapeamento de EDS mostrando a composição química da fibra de sisal após o tratamento de acetilação. As impurezas que apareciam no espectro da fibra natural agora desapareceram.*

Tabela 1. *Valores de energia de "band gap" em função do comprimento de onda e do tipo de fibra.*

Tipo de Fibra	Comprimento de onda λ (nm)	"Band Gap" E_{gap} (eV)
Sisal natural	311	3,98
Sisal mercerizado	329 e 335	3,77 e 3,70
Sisal Acetilado	228	5,44

Fonte: **Elaborado pelos autores, 2018.**

Tabela 2. *Resultados do ensaio de intumescimento das fibras, com imersão em água para verificar o grau de absorção de água.*

Fibra	Massa (g) seca	Massa (g) após 1 h	Massa (g) após 2 h	Massa (g) após 3 h	Massa (g) após 24 h	G.I. (%) 1 h	G.I. (%) 2 h	G.I. (%) 3 h	G.I. (%) 4 h
Natural	9,0 g	17,0 g	16,0 g	16,0 g	16,0 g	88,9	77,8	77,8	77,8
Mercerizada	9,0 g	16,0 g	15,0 g	15,0 g	15,0 g	77,8	66,7	66,7	66,7
Acetilada	9,0 g	14,0 g	14,0 g	14,0 g	14,0 g	55,5	55,5	55,5	55,5

Fonte: **Elaborado pelos autores, 2018.**

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ESTUDO DA SUSTENTABILIDADE NA OBTENÇÃO DE NITRATO DE PRATA A PARTIR DE RESÍDUOS ANALÍTICOS

STUDY OF THE SUSTAINABILITY IN THE OBTAINMENT OF SILVER NITRATE FROM ANALYTICAL WASTE

GRASEL, Fábio dos Santos[1,2,*]; FLORES, Bruna[2]; MEDEIROS, Geandra[2]; LAUSCHNER, Elton André[2]; SOUZA, Adrielle Fontoura[2]; BARROS, Carla Giane[2]

[1] Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, Rua Princesa Isabel, 60, cep 95770-000, Feliz – RS, Brasil
(fone: +55 51 3637 4400)

[2] Escola Estadual Técnica São João Batista, Curso Técnico em Química, Rua João Pessoa, 1468, cep 95780-000, Montenegro – RS, Brasil
(fone: +55 51 3632 2500)

** Autor correspondente*
e-mail: fsgrasel@gmail.com

Received 14 June 2018; received in revised form 09 August 2018; accepted 10 August 2018

RESUMO

A prata é um metal nobre e relativamente raro encontrado de forma natural na crosta terrestre. Este metal é muito utilizado na fabricação de diversos produtos de diferentes segmentos, entre eles joias, moedas, eletroeletrônicos, reagentes analíticos e fabricação de películas sensíveis para fotografia e radiografia. A grande geração de resíduos e a preocupação em relação à contaminação, por descarte inadequado de produtos perigosos tem sido um dos motivos para o estudo do reaproveitamento da prata e outros resíduos analíticos. Nesse projeto buscou-se a obtenção do nitrato de prata a partir de resíduos analíticos gerados em laboratórios. Foram utilizadas cinco diferentes rotas sintéticas para obtenção da prata metálica, sendo elas a redução por formaldeído, glicose, frutose, açúcar grau alimentício e zinco metálicos. O nitrato de prata obtido foi analisado a fim de calcular o rendimento e grau de pureza, onde se obteve resultados superiores a 96% de pureza, sendo possível se reciclar resíduos contendo prata, além de reagentes vencidos. O projeto apresentou ser sustentável e barato para a aplicação em instituições de ensino, diminuindo o volume de resíduos gerados e desenvolvendo conscientização ambiental.

Palavras-chave: resíduos analíticos, nitrato de prata, sustentabilidade, cloreto de prata.

ABSTRACT

Silver is a noble and relatively rare metal found naturally in the earth's crust. This metal is widely used in the manufacture of various products from different segments, among them jewelry, coins, electronics, analytical reagents and the manufacture of sensitive films for photography and radiography. The large generation of waste and the concern about the contamination by inappropriate disposal of dangerous products has been one of the reasons for the study of the reuse of silver and other analytical residues. In this project, we sought to obtain silver nitrate from analytical waste generated in the laboratories. Five different synthetic routes were used to obtain the metallic silver, being the reduction by formaldehyde, glucose, fructose, food grade sugar and metallic zinc. The obtained silver nitrate was analyzed to calculate the yield and degree of purity, where it obtained results superior to 96% of purity, being possible to recycle wastes containing silver, besides reagents expired. The project presented being sustainable and cheap for application in educational institutions, reducing the volume of waste generated and promoting environmental awareness.

Keywords: analytical residues, silver nitrate, sustainability, chloride silver.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

A prata é um metal nobre e relativamente raro encontrado de forma natural na crosta terrestre. Este metal é muito utilizado na fabricação de diversos produtos de diferentes segmentos, entre eles joias, moedas, eletroeletrônicos, reagentes analíticos e fabricação de películas sensíveis para fotografia e radiografia (Kuya, 1993; Modi *et al.,* 2012; Nakiboğlu *et al*., 2003; Ramirez *et al.,* 2011).

A prata é um elemento químico puro, metálico, que no estado natural apresenta-se branco e brilhante. No sistema periódico dos elementos, pertence ao grupo de metais de transição e se enquadra na família do cobre e do ouro. Seu símbolo químico, Ag, deriva de *argentum* (prata, em latim). Dúctil e maleável, de fácil manipulação química e mecânica, a prata é o metal de maior condutibilidade elétrica e calorífica. Na fabricação de dispositivos condutores, no entanto, a indústria dá preferência ao cobre, por ser mais econômico. A prata não oxida em contato com o ar, exceto quando ele contém gás sulfídrico, caso em que escurece. Quando polida, possui excelente capacidade de reflexão (Bendassolli *et al.* 2003; Modi *et al.,* 2012; Nakiboğlu *et al*., 2003).

Nos últimos anos do século XX, o México, Peru, Estados Unidos e Canadá eram os grandes produtores mundiais. Somente a Rússia, com suas reservas nos Urais e na Sibéria, produzia quantidades comparáveis. O Brasil é importador de prata, pois sua produção, que provém do refino do ouro e das metalurgias de chumbo e zinco é pequena (ADVFN, 2018).

Com o crescimento acelerado do desenvolvimento industrial vem à geração elevada de produtos e serviços, que por sua vez acabam gerando resíduos provenientes das mais variadas atividades humanas. A grande preocupação vem em relação ao descarte inadequado dos resíduos decorrentes desses produtos, o que representa um grave risco para o ambiente e para a saúde humana. Os organismos aquáticos, terrestres e os seres humanos são diretamente afetados pela contaminação através desse resíduo, já pontuado pela Agência de Proteção Ambiental por seu alto potencial tóxico quando despejado no ambiente e justificando a criteriosa tolerância de seu descarte em efluentes (Bendassolli *et al.* 2003; Dallago *et al*. 2008; EPA 2018). A disposição de resíduos de prata em efluentes e resíduos sólidos para o meio ambiente está bem estabelecida. Limite de descarte em efluentes líquido é de 0,1mg/L, segundo a Resolução Consema n° 355 (2017) e a Resolução CONAMA n° 357 (2005), alterada pela Resolução CONAMA n° 430 (2011) e para sólidos 5,0 mg/L, segundo a ABNT NBR 10004, Resíduos Sólidos – Classificação (2004) (Silva *et al.,* 2016).

Uma estimativa alarmante da ABETRE (Associação Brasileira de Empresas de Tratamento de Resíduos) confirma que 22% apenas, de cerca de 2,9 milhões de toneladas de resíduos industriais perigosos gerados anualmente no país, são tratadas adequadamente.

A exposição a compostos de prata e prata pura pode se dar por via oral, dérmica ou por inalação. A prata, apesar de ser encontrada na maioria dos tecidos, não tem função fisiológica conhecida. Em humanos, a ingestão acidental ou intencional de doses elevadas de nitrato de prata pode causar danos corrosivos do trato gastrointestinal, dor abdominal, diarreia, vômitos, convulsões e até morte. Irritação respiratória foi observada após a exposição aguda por inalação de prata ou compostos de deste metal (ATSDR, 1999; Bianchini and Wood, 2003; Science Lab 2018).

Atualmente, é unânime o pensamento que a melhor solução para minimizar o impacto ambiental é o reaproveitamento destes resíduos, aliados á isso, a reutilização e recuperação de materiais de valor agregado como matéria-prima ou como subprodutos têm crescido significativamente nos últimos anos. Mas infelizmente grande parte das empresas, além de instituições de ensino ainda possui dificuldades no gerenciamento destes resíduos, uma vez que o gerador é sempre responsável pelo seu resíduo (Abreu e Iamamoto, 2003; Alves *et al.,* 2005; Felisberto *et al.,* 2008; Jardim, 1998; Rodrigues *et al.,* 2018).

Nos laboratórios de pesquisa, controle de qualidade e ensino, a utilização de nitrato de prata é bastante comum, pois muitas análises, tais como determinação de cloretos, concentração de cloreto de amônio, demanda química de oxigênio entre outras são muito comuns (Felisberto *et al.,* 2008; Saran *et al.,* 2015; Songsasen e Poowanathai, 2002).

As análises com nitrato de prata, além de gerar resíduos com alta concentração deste metal, também tem um valor comercial muito

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

alto, por se tratar de um reagente nobre (Songsasen e Poowanathai, 2002).

Com base nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo a recuperação da prata contida em resíduos analíticos para posterior obtenção de nitrato de prata aplicando os conceitos de sustentabilidade somente utilizando reagentes vencidos e reciclando os mesmos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os resíduos de prata foram obtidos da central analítica da Escola Estadual Técnica São João Batista (Montenegro – RS), provenientes de diversos processos como análise de cloretos, concentração de cloreto de amônio e demanda química de oxigênio. Os reagentes analíticos utilizados na reação de obtenção do nitrato de prata são todos vencidos, com exceção dos utilizados para determinação do grau de pureza do produto final obtido. Os reagentes utilizados foram: cloreto de sódio (grau alimentício), hidróxido de amônio, ácido nítrico, glicose, frutose, hidróxido de sódio, hidróxido de potássio e ácido clorídrico, sendo todos fora do prazo de validade. Para determinação do grau de pureza foi utilizado nitrato de prata PA (Synth), ácido nítrico PA (Nuclear), sulfato férrico amoniacal (Synth) e tiocianato de amônio 0,1 M (Merck).

2.1. Preparação dos Resíduos Analíticos de Prata

Para o tratamento do resíduo, foi adicionado cloreto de sódio (NaCl) (grau alimentício), precipitando a prata que estava solúvel, na forma de cloreto de prata. Em seguida, foi separado o precipitado do sobrenadante por filtração em filtro de vidro sinterizado nº 4. O precipitado foi lavado com água destilada quente (Murphy *et al.,* 1991).

2.1.1 Obtenção do Cloreto de Prata

Em um béquer de 250 mL foram pesados 2,5g de resíduos analíticos de prata e adicionado sobre o mesmo 50 mL de água. A solução foi agitada por alguns minutos e em seguida foi adicionado 50 mL hidróxido de amônio, mantendo agitação até completa solubilização dos resíduos de prata. Em seguida foi adicionado mais 50 mL de água e agitado até completa dissolução. Após foram adicionados lentamente 100 mL de ácido nítrico/água (1:1 v/v) sobre o meio reacional. A reação que ocorre é uma reação exotérmica obtendo um precipitado branco. Sobre a solução foi adicionado 5g cloreto de amônio, onde foi obtido o cloreto de prata na forma de precipitado branco. A solução foi filtrada e o precipitado lavado com água destilada e seco a temperatura ambiente (Murphy *et al.,* 1991).

2.1.1 Obtenção da Prata Metálica

Para a obtenção da prata metálica a partir do cloreto de prata foram utilizadas cinco metodologias diferentes. As técnicas utilizadas para a redução do cloreto de prata a prata metálica foram reduções com: formaldeído, açúcar grau alimentício, glicose, frutose e zinco metálico.

2.1.1.1 Redução com Formaldeído

Sobre 2,5g de cloreto de prata obtido na reação anterior foram adicionados 2,05g de hidróxido de sódio em 50 mL água sob agitação, em um béquer de 250 mL. Em seguida foi adicionado 2 mL de formol 37%, gota-a-gota. O béquer foi coberto com um vidro de relógio e agitado por uma hora, à temperatura de 70 ºC. Posteriormente, a solução foi filtrada em funil sinterizado n° 4, lavado com água destilada e seca a temperatura ambiente, onde se obteve esferas de prata metálica (Hsu *et al*., 1996; Murphy *et al.,* 1991; (Songsasen e Poowanathai, 2002). A reação ocorre conforme a equação 1.

$2\ AgCl + 3\ NaOH + CH_2O \rightarrow 2\ Ag + HCO_2Na + 2\ NaCl + 2\ H_2O$ **(1)**

2.1.1.2 Redução com açúcar grau alimentício

Sobre 2,5g de cloreto de prata obtido na reação anterior foram adicionados 1,4 g de hidróxido de sódio em 50 mL água sob agitação, em um béquer de 250 mL. Adicionou-se 2g de açúcar comercial sobre o meio reacional, cobrindo o béquer com um vidro de relógio e mantendo em agitação por 60 minutos, à temperatura de 60-70°C. Posteriormente, a solução foi filtrada em funil sinterizado n° 4, lavado com água destilada e seca a temperatura ambiente, onde se obteve esferas de prata metálica (Hsu *et al*., 1996; kuya, 1993; Songsasen e Poowanathai, 2002). A reação ocorre conforme a equação 2.

$2\ AgCl + 3\ NaOH + C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2Ag + C_6H_{11}O_7Na$

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

+ 2 NaCl + 2 H_2O **(2)**

2.1.1.3 Redução com glicose e frutose

As técnicas de redução por glicose e frutose seguiram o mesmo procedimento da técnica de redução por glicose comercial (2.1.1.2). A única diferença foi a troca do açúcar comercial pela glicose ou frutose, nas mesmas concentrações (Songsasen e Poowanathai, 2002). A reação ocorre conforme a equação 2.

2.1.1.4 Redução com zinco metálico

Em um béquer de 250 mL contendo 2,5 g cloreto de prata, adicionou-se 10 mL de ácido clorídrico 0,01M. Em seguida foram adicionados 0,75g de zinco metálico em pó e agitado por 24h em agitador magnético, à temperatura ambiente. Após o tempo decorrido, a solução foi filtrada em funil sinterizado nº 4 onde se obteve esferas de prata metálica. As esferas de prata foram lavadas com solução de ácido sulfúrico 6M, para remover o excesso de zinco metálico, seguido de água (Hsu *et al*., 1996). A reação ocorre conforme a equação 3.

2 AgCl + Zn → 2 Ag + ZnCl **(3)**

2.1.2 Obtenção do Nitrato de Prata

Após secas, as esferas de prata foram transferidas para um béquer de 250 mL e adicionado 10 mL de água, seguido de 10 mL de ácido nítrico, mantendo em agitação por 1 hora. Após o tempo decorrido, a solução foi filtrada em funil sinterizado nº 4 para retirar as impurezas e lavado com água destilada. A solução foi transferida para uma cápsula de vidro e concentrada em banho-maria. Depois a cápsula foi transferida para um dessecador contendo sílica gel e escamas de hidróxido de potássio, para neutralizar os vapores ácidos e armazenado a vácuo até completa secagem do nitrato de prata. Para determinação do rendimento, a amostra foi seca em estufa a 105 °C por 60 minutos e armazenada em dessecador para as etapas posteriores (Amaral *et al.,* 2001; Songsasen e Poowanathai, 2002).

2.1.3 Análise do grau de pureza do Nitrato de Prata

Para a determinação do grau de pureza foram pesados 0,3 g de amostra seca em estufa e dissolvidos em 50 mL de água. Em seguida, foi adicionado 1 mL de ácido nítrico P.A. e 1mL de indicador de sulfato férrico amoniacal e titulado com tiocianato de amônio 0,1 M até o aparecimento de uma leve coloração laranja avermelhado. O cálculo do grau de pureza foi realizado a partir da seguinte fórmula:

$$\%\ de\ pureza = \frac{\mathrm{V(ml).M.F.}\ 16{,}987}{P\ (g)}$$

onde V é o volume (mL), M molaridade e F o fator do tiocianato de amônio e P é o peso em gramas da amostra de nitrato de prata. Este foi o único procedimento que não se utilizou reagentes vencidos, para garantir uma caracterização mais precisa. A análise foi realizada em triplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Para o tratamento do resíduo analítico foi adicionado inicialmente, cloreto de sódio em excesso, para garantir que toda a prata que estava solúvel precipitasse de na forma de cloreto de prata. O precipitado de cloreto de prata, com outros precipitados também de prata foram filtrados e secos a temperatura ambiente.

A etapa seguinte foi realizada para purificar o resíduo analítico, que estava nas mais diferentes formas de precipitado. Nesta etapa foi adicionado e hidróxido de amônio para solubilizar todo o precipitado de prata na forma de diaminprata, também chamado de diaminoargentato de prata, conforme a equação 4.

AgX + 2 NH_3 → $Ag(NH_3)_2^+$ + X^- **(4)**

O precipitado de prata pode estar em diferentes formas, com contra-íons diferentes de cloreto. Esta etapa é importante para garantir que todo o precipitado esteja na forma de cloreto de prata, conforme necessário para as próximas etapas. Depois foi adicionado ácido nítrico, seguido de cloreto de amônio. Primeiramente todo diaminprata passou para a forma de nitrato de prata e depois foi precipitado na forma de cloreto de prata, conforme as equações 5 e 6.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

$Ag(NH_3)_2^+ + HNO_3 + 2\ H_2O \rightarrow AgNO_3 + 2\ NH_3 + H_3O^+$ **(5)**

$AgNO_3 + NH_4Cl + \rightarrow AgCl + HNO_3$ **(6)**

Nesta etapa verifica-se a formação de um precipitado muito branco e a solução ficou turva, indicando que todas as impurezas ficaram na fração aquosa. Depois a solução foi filtrada e o precipitado lavado com água destilada a quente.

A obtenção da prata metálica, do nitrato de prata e a determinação do grau de pureza do reagente obtido estão apresentados na Tabela 1.

Todas as metodologias apresentaram um rendimento similar na obtenção da prata metálica, com exceção do método empregando glicose. Todos os métodos apresentaram um rendimento em torno de 80% e o método que emprega glicose apresentou 75%. Considerando que todos os reagentes estavam vencidos e o intuito era o reaproveitamento dos mesmos, a glicose poderia estar com uma degradação superior aos demais.

Na análise de rendimento na obtenção do nitrato de prata, o método com formaldeído e com frutose apresentaram os maiores rendimentos, 96,53% e 96,66%, respectivamente. A glicose apresentou um rendimento intermediário, 92,62 % e o zinco e o açúcar comercial foram os menores valores observados, 90,67% e 90,28%, respectivamente.

A única etapa que não foram reaproveitados reagentes vencidos foi na determinação do grau de pureza, do nitrato de prata obtido.

Os graus de pureza variaram de 96,17 a 99,27 %, sendo os resultados mais altos para a metodologia empregando formaldeído, açúcar grau alimentício e glicose, conforme Tabela 1. As metodologias empregando frutose e zinco apresentaram os menores valores 96,99 e 96,27%, respectivamente.

Para a recuperação de resíduos de laboratório e reagentes vencidos em escolas de nível médio e técnico na obtenção de nitrato de prata, todas as metodologias se apresentaram satisfatórios.

A metodologia empregando zinco é uma técnica que necessita de mais tempo que as demais. Enquanto todas as demais técnicas necessitam de uma hora para a obtenção da prata metálica, a metodologia empregando zinco necessita de 24 horas. Além disto, é necessária a adição de ácido sulfúrico para a remoção do excesso de zinco metálico.

CONCLUSÕES:

Foram testadas cinco técnicas simples para obtenção de nitrato de prata a partir de resíduos analíticos e reagentes vencidos com bons rendimentos. A técnica empregando zinco se apresentou a menos viável que as demais, por ser mais demorado, além da necessidade de uma etapa adicional empregando ácido sulfúrico. As variações no rendimento e grau de pureza do nitrato de prata nas técnicas empregando açúcares (frutose, glicose e açúcar grau alimentício), pode ser devido ao grau de pureza dos respectivos reagentes, considerando que todos foram reaproveitados. A metodologia empregando formaldeído, mesmo apresentando bons resultados necessita de cuidados adicionais, pois o reagente é conhecido como potencial carcinogênico. Os procedimentos de reaproveitamento dos resíduos analíticos e reagentes vencidos apresentaram serem sustentáveis, diminuindo os resíduos de laboratório sem causar danos ao meio ambiente. Portanto, esse projeto apresentou ser economicamente viável e ecologicamente correto. Estas técnicas poderão ser potencialmente utilizadas em laboratórios de Instituições de ensino a fim de recuperar os resíduos analíticos transformando-os em produtos para consumo nas aulas práticas, além do desenvolvimento da conscientização ambiental.

REFERÊNCIAS:

1. http://www.abetre.org.br/. Acessado em: 13.06.2019.
2. ABNT, NBR. 10004: 2004. Resíduos sólidos: Classificação. Associação Brasileira de Normas, **2004**.
3. Abreu, D.G., Iamamoto, Y., *Química Nova*, **2003**, 26, 582.
4. ADVFN.https://br.advfn.com/investimentos/commodities/prata/introducao. Acessado em 13.06.2018.
5. Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. (ATSDR), Reseña Toxicológica de la Plata. Atlanta,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

GA: Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE.UU., Servicio de Salud Pública, **1999**.

6. Alves, L.C., Henrique, H.M., Xavier, A.M., Cammarota, M.C., *Bioresource Technology*, **2005**, 96, 1650.
7. Amaral, S.T., Machado, P.F.L., Peralba, M.D.C.R., Camara, M.R., Santos, T.D., Berleze, A.L., Falcão, H.L., Martinelli, M., Gonçalves, R.S., Oliveira, E.R., Brasil, J.L., Aurélio, M., Araújo, M., Borges, A.C.A., *Quim. Nova,* **2001**, 24, 419.
8. Bendassolli, J.A., Tavares, G.A., FIgnoto, R., Rosseti, A.L.R.M., *Química Nova*, **2003**, 26, 578.
9. Bianchini, A., Wood, C.M., *Environmental Toxicology and Chemistry*, **2003**, 22, 1361.
10. Dallago, R.M., Di Luccio, M., Golunski, C., Batistella, L., *Engenharia Sanitária e Ambiental*, **2008**, *13*, 121.
11. Felisberto, R., Vieira, L.O., Couto, A., Schuh, R., Albino, C.T., Libardi, D.B., Cunha, A.C.B., *Química Nova*, **2008**, 31, 174.
12. Hsu, P.C., Chiba, Z., Schumacher, B.J., Murguia, L.C., Adamson, M.G., Lawrence Livermore National Lab., CA (United States), **1996**.
13. Jardim, F. W., *Química Nova*, **1998**, 21, 671.
14. Kuya, M.K., *Química Nova*, **1993**, 474.
15. Co. de Shanghai GCM, Ltd. http://www.appraisal-fp7.eu/20534/canad%C3%A1-mineral-de-ouro-da-tritura-o.html#. Acessado em 13.06.2018.
16. Modi, A., Shukla, K., Pandya, J., Parmar, K., *Emerging Technology and Advanced Engineering*, **2012**, 599.
17. Murphy, J.A., Ackerman, A.H., Heeren, J. K., *Journal of Chemical Education*, **1991**, 68, 602.
18. Nakiboğlu, N., Toscali, D., Nisli, G. *Turkish Journal of Chemistry*, **2003**, 27, 127.
19. Ramirez, P.A., Reyes, V.E., Veloz, M.A., *International Journal of Electrochemical Science,* **2011**, 6, 6151.
20. Resolução CONAMA n° 357, **2005**.
21. Resolução CONAMA n° 430, **2011**.
22. Resolução CONSEMA n° 355, **2017**.
23. Rodrigues, C.A., Laurenti, A., Souza, L., Silva, B.E.S., *In Towards Green Campus Operations*, **2018**, 793.
24. Saran, L.M., Giansante, R.H., Silveira, G.A., Matinato, M.G., Duda, R.M., *Revista Virtual de Química*, **2015,** 7, 1072.
25. Science Lab.com. Silver Nitrate MSDS. http://www.sciencelab.com/msds.php?msdsId=9927411. Acessado em:14.06.2018.
26. Silva, M.G.L., Silva, L.C.S., Mazzé, F.M., Ataíde, M.C.E.S., *Holos,* **2016**, 2, 132.
27. Songsasen, A., Poowanathai, N., Kasetsart *J. (Nat. Sci.),* **2002**, *36*, 435.
28. U.S. Environmental Protection Agency. https://www.epa.gov/. acessado em: 14.06.2018.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 1. *Resultados dos percentuais de prata, nitrato de prata e pureza obtidos.*

Metodologias	Prata (%)	$AgNO_3$ (%)	Pureza ($AgNO_3$ %)
Formaldeído	79,56 ± 2,32	96,53 ± 3,83	99,27 ± 0,38
Açúcar comercial	79,62 ± 0,98	90,28 ± 2,59	99,29 ± 0,37
Glicose	75,38 ± 1,27	92,63 ± 3,43	98,02 ± 0,65
Frutose	79,32 ± 0,79	96,66 ± 0,94	96,99 ± 0,42
Zinco	80,23 ± 0,38	90,67 ± 1,64	96,17 ± 0,43

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

A IMPORTÂNCIA DO CONTROLE DO VÍRUS DA RAIVA, SUA DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA, CICLO BIOLÓGICO, PATOGENIA E MEDIDAS PROFILÁTICAS: UMA REVISÃO.

THE IMPORTANCE OF RIVER VIRUS CONTROL, IT'S GEOGRAPHICAL DISTRIBUTION, BIOLOGICAL CYCLE, PATHOGENESIS AND PROPHYLATIC MEASURES: A REVIEW.

ALVES, Thiago Willame Barbosa[1*]; ANDRADE JÚNIOR, Francisco Patricio de[1]; BARBOSA, Vanessa Santos de Arruda[2]

[1,] Universidade Federal do Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, Departamento de Farmácia, Olho D'água da Bica, S/N, cep 58175-000, Cuité – PB, Brasil
(fone: +55 83 99990-0111)

[2]Profª. Drª. Universidade Federal do Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, Departamento de Farmácia, Olho D'água da Bica, S/N, cep 58175-000, Cuité – PB, Brasil
(fone: +55 83 98102-9314)

** Autor correspondente*
e-mail: thiagofarmacia2013.2@outlook.com

Received 10 May 2018; received in revised form 09 August 2018; accepted 10 August 2018

RESUMO

A raiva é uma infecção zoonótica que atinge o sistema nervoso central, sendo causada por um vírus de RNA pertencente ao gênero *Lyssavirus*. O presente estudo objetivou reunir informações acerca da importância do controle do vírus da raiva (VR), correlacionando com sua distribuição geográfica, ciclo biológico, patogenia e medidas profiláticas. Trata-se de um estudo de revisão em que utilizaram-se as bases de dados *Medline/Pubmed, Lilacs, Scielo, Science Direct*, Banco de Teses e Dissertações de Universidades Públicas e dos comitês nacionais e internacionais de saúde. Foram analisados 105 materiais, dos quais 52 foram incluídos nesse estudo e os que não tinham aspectos relevantes sobre o tema proposto, foram excluídos. A raiva apresenta distribuição mundial, onde sua mortalidade chega a quase 100%. Sendo assim, imprescindível a vigilância permanente para os diferentes componentes da cadeia de transmissão do VR, ademais a vacinação dos animais domésticos (cães e gatos) e a profilaxia pós-exposição devem ser bem executadas, para promover melhor prevenção contra esse vírus e impossibilitar o possível desenvolvimento desta enfermidade.

Palavras-chave: *Vírus da raiva, Profilaxia pós-exposição*, *Saúde Pública*.

ABSTRACT

The rabies is a zoonotic infection that attacks the central nervous system, being caused by a virus of RNA belonging to the *Lyssavirus* genus. The present study aimed to gather information about the importance of rabies virus (VR) control, correlating with its geographical distribution, biological cycle, pathogenesis and prophylactic measures. This is a review study in which the databases *Medline/Pubmed, Lilacs, Scielo, Science Direct*, thesis and dissertation bank of public universities and the national and international health committees were used. We analyzed 105 materials, of which 52 were included in this study, those that did not have relevant aspects about the proposed theme, were excluded. Rabies has a worldwide distribution, where its mortality reaches almost 100%. Therefore, permanent surveillance of the different components of the RV transmission chain is essential, in addition vaccination of domestic animals (dogs and cats) and post-exposure prophylaxis should be well performed to promote better prevention against this virus and to prevent possible development of this disease.

Keywords: *Rabies virus*, *Post-Exposure Prophylaxis*, *Public Health*.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

A raiva é uma infecção zoonótica, causada por um vírus de RNA, pertencente à ordem Mononegavirales, família Rhabdoviridae e gênero *Lyssavirus* (LIMA *et al*., 2005; BATISTA; FRANCO; ROEHE, 2007). É uma enfermidade viral caracterizada por encefalomielite aguda e letal, tento importância econômica, por causar prejuízos à pecuária, e por ser considerado um grave problema de saúde pública mundial (QUEIROZ *et al*., 2009). Sua transmissão para o homem ocorre pela inoculação do agente infeccioso presentes na saliva e secreções dos animais infectados, principalmente pela mordedura (BOURHY *et al*., 2010). A raiva é uma das doenças tropicais mais negligenciadas afetando principalmente populações pobres e vulneráveis que vivem em zonas rurais. Apesar da redução na sua ocorrência observada nos últimos anos, a raiva humana continua sendo um problema de saúde pública pela altíssima gravidade do seu acometimento, além do alto custo na assistência, profilaxia e controle da doença (WHO, 2017; BRASIL, 2017).

Toda a classe Mammalia (mamíferos) está susceptível ao vírus da raiva (VR), porém duas ordens (Carnivora e Chiroptera), são considerados reservatórios primários, tendo importância para a saúde pública (KOTAIT *et al*., 2007; MORAES *et al*., 2011). No Brasil são encontradas 165 espécies de quirópteros, sendo esses insetívoros, frugíveros e hematófagos (WILASON; REEDER, 2005). Na ordem Carnivora, destacam-se as famílias Canidea (cães, raposas etc), Procyonidae (guaxinim), Mustelidea (gambá) e Herpestidae (mangosta) (KOTAIT *et al*., 2007). Os reservatórios domésticos mais importantes para a raiva humana na América Latina são os cães e os animais selvagens considerados reservatórios nessa região que são as raposas e os morcegos (SILVA *et al*., 2009; MASCARENHAS *et al*., 2009). A infecção é fatal quando o infectado pelo VR não recebe profilaxia pós-exposição adequada. A imunidade é adquirida pelo uso da vacina e a imunidade passiva, pelo uso do soro (BOURHY *et al*., 2010).

Todos os anos, mais de 15 milhões de pessoas em todo o mundo recebem tratamento pós-exposição para prevenir a doença, evitando milhares de mortes por raiva anualmente (WHO, 2017). Entende-se por tratamento pós-exposição o tratamento preventivo do paciente feito com vacinas, com ou sem administração concomitante de soro, após acidente com animal em que houve risco de transmissão do VR (YOUSAF *et al*., 2012; BRASIL, 2017). O tratamento pós-exposição continua elevado no Brasil, como também o número de abandonos ao tratamento, promovendo assim a não garantia da imunização do paciente (VELOSO *et al*., 2011).

No Brasil, até o ano de 2001, a vacina antirrábica era produzida em tecidos nervosos de camundongos lactentes. No entanto, a partir do ano seguinte, essa vacina foi substituída gradativamente por vacinas produzidas em cultura de células, sendo essa nova vacina antirrábica mais segura e potente, disponibilizada por toda rede pública no ano de 2003 (BRASIL, 2014). No Brasil, o esquema profilático recomendado segue as normas técnicas estabelecidas pelo Ministério da Saúde, variando da dispensa de profilaxia à indicação de vacina antirrábica com ou sem soro heterólogo ou imunoglobulina (BRASIL, 2009a; WADA; ROCHA; MAIA-ELKHOURY, 2011).

No período de 2000 a 2009, anualmente uma média de 425.400 pessoas procuraram atendimento médico, por terem sido expostas ou por se julgarem expostas ao VR no Brasil. Sendo observado que mais de 64% dos casos, a profilaxia pós-exposição foi indicada (BRASIL, 2014). De 1990 a 2017, houve 595 notificações de raiva humana no Brasil, com apenas um paciente obtendo a cura da doença no país (BRASIL, 2009b; BRASIL, 2017a; BRASIL, 2017b).

A profilaxia pós-exposição deve ser instituída, após a análise do caso, mediante anamnese completa e anotação dos dados do agravo. No Brasil, o Sistema de Informações de Agravos de Notificação (SINAN) tem por objetivo registrar e processar os dados sobre agravos de notificação em todo o território nacional, fornecendo informações para análise do perfil da morbidade e contribuindo, dessa forma, para a tomada de decisões nas esferas municipal, estadual e federal. O sistema é constituído por um conjunto de fichas padronizadas referentes à lista de doenças de notificação compulsória, entre elas a ficha de atendimento antirrábico humano (BRASIL, 2014).

Deste modo, levando em consideração a importância dessa temática, sobretudo, para os profissionais de saúde, o presente estudo teve como objetivo fazer uma revisão bibliográfica

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

com informações atualizadas acerca da raiva.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Delineamento do estudo

O presente estudo apresenta uma revisão bibliográfica do tipo narrativa. Foram utilizados artigos publicados em periódicos especializados e em anais de eventos científicos, dissertações, teses e diretrizes escritas nas línguas inglesa e portuguesa, utilizando-se os delimitadores e palavras-chaves: 1) Raiva; 2) Profilaxia pós-exposição; 3) Vírus da raiva; 4) Vacinação; 5) Vacinação antirrábica; 6) *Rabies*; 7) *Post-Exposure Prophylaxis*; 8) *Rabies virus*; 9) *Vaccines*; 10) *Rabies vaccines*; utilizadas isoladas e associadas em várias combinações.

2.2 Critérios de Inclusão e Exclusão

Foram incluídos estudos que em seu conteúdo trouxessem informações acerca da história do vírus da raiva, distribuição geográfica, ciclo biológico, etiologia do vírus da raiva, diagnóstico, patogenia, sinais clínicos e profilaxia, de estudos publicados entre os anos de 2000 a 2018. Estudos que não atenderam o tempo cronológico delimitado e que não trouxeram informações concisas acerca do VR, foram excluídos.

2.3 Fontes de Informação

Os artigos foram recuperados a partir das bases de dados: *Lilacs* (Centro América Latina e Caribe em Ciências da Saúde), Scielo (Scientific Eletronic Library Online), *Medline* (Medical Literature Analysis and Retrivel System Online), Pubmed (Public Medline or Publisher Medline), *Science Direct*, Banco de Teses e Dissertações de Universidades Públicas e dos comitês nacionais e internacionais de saúde.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. História e Descoberta da Raiva

A raiva é uma das doenças mais antigas e temidas que a humanidade conhece, onde os primeiros registros datam de 2.300 a.C. na Mesopotâmia (ATISTA; FRANCO; ROEHE, 2007; PAHO, 2018). Essa enfermidade é estuda desde a antiguidade, sendo retratada como uma doença que causava a morte de animais e humanos que tinham contato com cães infectados (BAER, 1991). Demócritus e Aristóteles, foram os primeiros a reconhecer a raiva como uma doença de animais, em 500 a.C e 322 a.C. respectivamente (CHAVES, 2010).

Essa zoonose era bastante comum e disseminada, pois diversas civilizações conheciam essa doença, sendo registrada por toda a história, em relatos de médicos, políticos, religiosos, astrologistas, em desenhos e textos literários, como por exemplo a obra dos Lusíadas do poeta português, Luis de Camões (CORTEZ, 2006).

Em 1271 d.C. é descrita a primeira epizootia de raiva, na região europeia de Francônia (Alemanha), onde é descrito que lobos raivosos atacaram um vilarejo, causando a morte de 30 pessoas (BAER, 1991). Já no continente americano, a doença tem seu primeiro relato em 1709, no México, ocorrendo em seguida a confirmação da doença em Barbados, no ano de 1741. Em 1768 a 1771 tem-se a primeira epizootia nas Américas, sendo registrada no estado Boston, Estados Unidos, onde é confirmada a transmissão do VR pelos cães e raposas. Na América do Sul, a raiva é descrita em 1803 e 1806, no Peru e na Argentina respectivamente, sendo essa doença trazida por cães de caça ingleses (PAHO, 2018).

Celsius no 1º século a.C. descreveu como poderia ocorrer a transmissão do vírus para o homem, afirmando que toda a mordida poderia conter o vírus, fosse ele causada por homem, cão, macaco, ou outro animal selvagem (CHAVES, 2010).

Outros pesquisadores confirmaram que a saliva contaminada com o VR de mamíferos, era um grande foco de disseminação da doença. Em 1804, Zinke demonstrou a capacidade infectante da saliva de cães raivosos, quando inoculado em cães sadios, onde esses contraíram a raiva. Já em 1821, Magendie e Breschett, provocaram a infecção de cães com saliva humana infectada, provando que ambos os casos estavam envolvidos pelo mesmo agente (BAER, 1991). Em 1881, em Lion, na França, Galtier provou que seria possível induzir proteção contra a raiva, pois em seu estudo com carneiros, foi observado que após sucessivas injeções de saliva contaminada por via intravenosa, esses animais adquiriram imunidade (JACKSON; WINNER, 2007).

Motivado pelos estudos de Zinke e Galtier, Louis Pasteur, em 1880, inicia sua pesquisa sobre a raiva, demostrando que a

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

doença é transmitida por um vírus (PAHO, 2018). Nos seus sucessivos experimentos, Pasteur conseguiu a manutenção de um estirpe do agente em laboratório, podendo assim desenvolver uma vacina contra a raiva (CORTEZ, 2006; BABBONI; MODOLO, 2011). Ele isolou o vírus a partir da inoculação em coelhos por via intracelular (BABBONI; MODOLO, 2011).

Pasteur conseguiu desenvolver uma vacina utilizando a medula de coelhos, que após ser testada em cães, mostrando-se uma forma efetiva na proteção contra o VR. Em 1885, Pasteur vacinou um menino, o qual nunca contraiu a doença, e em 1886 ele tratou diversas pessoas agredidas por animais raivosos, obtendo sucesso com sua vacina (BAER, 1991).

Na primeira metade do século 20, os estudos sobre a raiva se intensificaram, onde foram desenvolvidas várias vacinas cujo substrato para a replicação viral era tecido nervoso de animais adultos, semelhante aos experimentos da vacina utilizada por Pasteur (BABBONI, 2011; LOPES, 2016). Inspirado nos experimentos de Pasteur, o pesquisador argentino Davel, trouxe a cepa de Pasteur do vírus, para a América do Sul, reproduzindo os experimentos do francês em laboratório e tratando três crianças uruguaias mordidas por cães raivosos, obtendo sucesso em sua pesquisa (CORTEZ, 2006). Já em 1911, no estado de Santa Catarina, Antonio Carini, sugere que a transmissão do VR ocorre por morcegos hematófagos, sendo a hipótese confirmada pelos pesquisadores alemães Haupt e Rehaag, no ano de 1925 (SILVA *et al*., 2007).

Em 1939, Webster e Dawson desenvolveram a prova de inoculação em camundongos, contribuindo assim para o diagnóstico da doença. Já na década de 50, Fuenzalida e Palácios, no Chile, desenvolveram uma vacina produzida em cérebro de camundongos recém-nascidos, teoricamente isenta de mielina, pois foi observado reações adversas neurológicas a vacina, advindas de restos do SNC das cobaias (BABBONI; MODOLO, 2011; LOPES, 2016; PAHO, 2018).

No Brasil até o ano de 2001, a vacina de Fuenzalida e Palácios era utilizada para imunização da população, porém no ano de 2002, houve a substituição gradativa pelas vacinas produzidas em cultura de células, consideradas mais seguras e potentes, que passaram a ser disponibilizadas em toda a rede pública no ano de 2003. (WADA; ROCHA; MAIA-ELKHOURY, 2011). No entanto, a raiva, ainda representa um grave problema de saúde pública, principalmente nos países em desenvolvimento e onde o ciclo de transmissão animal doméstico/homem está em frequente manutenção (BRASIL, 2009a).

3.2. Distribuição geográfica da raiva

A disseminação da raiva, veio acompanhada das guerras e das colonizações que ocorriam nos continentes, sendo seguida pelo aumento da população mundial e consequentemente pelo aumento da mobilidade humana e animal, por conta dos desmatamentos excessivos para a exploração das novas terras e pelo convívio estreito com os reservatórios e hospedeiros do vírus (WHO, 2017).

Esse vírus é encontrado em todo o mundo, com exceção do continente Antártico, e países que erradicaram a doença, caso do Japão, Inglaterra, países escandinavos e Irlanda (MORATO; IKUTA; ITO, 2011). É endêmico nos países africanos e asiáticos, como pode ser observado na figura 1, onde é registrado cerca de 95% das mortes humanas. Por ano, cerca de 59.000 pessoas vão a óbito, por conta dessa doença e cerca de 15 milhões recebem tratamento pós-exposição a um animal suspeito de raiva (WHO, 2017).

Em países do continente Africano, as medidas de controle da raiva são menos bem sucedidas, pois economicamente os países são pobres, não tem uma infraestrutura adequada, inacessibilidade a imunobiológicos preventivos e falta de prioridade dada a raiva, por conta de outras doenças, como AIDS, malária, tuberculose e outras doenças negligenciadas (CORTEZ, 2006).

3.2.1. Nas Américas

Na América Latina a raiva é transmitida pelo seu ciclo urbano, onde os cães são incriminados como principais transmissores da doença para os humanos (LIMA; GAGLIANI, 2014; PAHO, 2018). Já no norte do continente (Estados Unidos e Canadá) a transmissão ocorrer no ciclo silvestre, não havendo casos de raiva humana e canina confirmados no último relatório da OMS (WHO, 2017).

Em 1980, 340 casos de raiva humana e

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

25.586 casos de raiva canina foram confirmados na América Latina. No entanto, entre os anos de 1989 a 1998, houve o registro de 1.904 casos de raiva humana, sendo 782 casos confirmados na América Andina, 459 no Brasil, 369 no México, 200 na América Central e 45 na Argentina, Chile, Paraguai e Uruguai. Neste mesmo período foram confirmados 81.630 casos caninos (PAHO, 2018).

Em 1983, foi adotado uma ação conjunta pelos países da América Latina, com o intuito de eliminar a raiva canina, onde foi colocado em prática o Programa Regional de Eliminação da Raiva Transmitida pelo Cão nas Américas. Como resultado, observou-se a diminuição da incidência de casos de raiva transmitida pelos cães (PAHO, 2018).

O número de casos de raiva humana vem diminuindo com o decorrer dos anos na América Latina, onde no período de 1992 a 2001, foi observado apenas 60 casos humanos. Porém, de 2013 a 2016, foi registrado 83 casos humanos de raiva, havendo um aumento no número de casos registrado nas Américas, sendo 44 casos transmitidos por cães (PAHO, 2018).

Alguns fatores podem ter influenciado o aumento do número de casos registrados de raiva humana na América Latina, como o encolhimento das campanhas de vacinação canina, ausência de programas de educação em saúde para demonstrar a importância da vacinação dos animais de estimação, atraso nas verbas para execução das intervenções específicas e deficiência nas atividades de prevenção e controle da raiva (CORTEZ, 2006; PAHO, 2018).

3.2.2. No Brasil

De 2011 a 2016, foram notificados 3.628.549 atendimentos antirrábicos humanos no país. No ano de 2011 foram registrados 591.747 casos de profilaxia antirrábica, se observando um aumentando gradual, onde o número de notificações atingiu 627.867 atendimentos em 2015, porém em 2016 esse número de atendimentos diminuiu para 454.328 casos (BRASIL, 2017c). De 2007 a 2009, houve 1.444.130 notificações de atendimento antirrábico humano, com uma média anual de 481.377, das quais 55% ocorreram em homens e 57% na faixa etária de 0 a 29 anos (WADA; ROCHA; MAIA-ELKHOURY, 2011). De 2011 a 2016 a região Sudeste apresentou 39,5% dos atendimentos, seguida do Nordeste com 27,5%, Sul com 15,5%, Norte com 9,7% e Centro-oeste com 7,8% (BRASIL, 2017c).

Em relação à distribuição dos casos de raiva quanto aos animais transmissores, foi observado que entre 2011 a 2016, 16 casos foram confirmados para raiva humana, sendo 75% dos casos no Nordeste do país. Desse período pode-se perceber que o cão foi responsável por 50% dos casos, seguido pelos gatos, saguis e macacos com 12,5% cada e morcegos e animal desconhecido com 6,2% cada (BRASIL, 2017c). No Brasil, no período de 1990 a 2017 foram registrados 595 casos de raiva humana (Figura 2) sendo a região Nordeste respondendo por 57,1% dos casos notificados. Em 2017, três casos de raiva humana foram notificados, sendo dois na região Nordeste e um na região Norte (BRASIL, 2017a).

Entre 2011 e 2016, Poço do Lumiar-MA, São José de Ribamar-MA, São Luís-MA, Jati-CE, Humberto de Campos-MA, Parnaíba-PI, São José de Ribamar-MA, Mirinzal-MA, Pio IX-PI, Jacaraú-PB e Iracema-CE, foram as cidades Nordestinas a registrar casos de raiva humana, em todos os casos o protocolo de tratamento de Raiva Humana no Brasil foi aplicado, mas desse período nenhum caso teve sucesso (BRASIL, 2017c).

3.3. Programa Nacional de Profilaxia da Raiva Humana

Em 1973, no país foi instituído o Programa Nacional de Profilaxia da Raiva Humana (PNPR) tendo como objetivo a redução do número de casos humanos mediante o controle dessa zoonose em animais domésticos, como também a realização de profilaxia em pessoas mordidas ou que tiveram possível contato com animais com raiva. A descentralização das ações do PNPR para estados e municípios entre os anos de 1980 e 1990 tem possibilitado a manutenção do controle sobre a circulação do vírus por meio de ações locais: tratamento profilático antirrábico humano adequado e acessível; esclarecimento à comunidade; vacinação em massa de cães e gatos (campanhas nacionais); apreensão de animais errantes; controle de focos; e caracterização de área de risco (BRASIL, 2014).

Dentro do Programa de controle, a

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

primeira ação a ser adotada é a atenção adequada às pessoas expostas, que inclui tratamentos pós-exposição. As ações do PNPR foram se expandindo gradativamente até sua implantação ser concluída, em todas Unidades Federativas do território nacional, em 1977. Em 1983, a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) desenvolveu o 'Plano de Ação para Eliminação da Raiva Urbana das Principais Cidades da América Latina', resultando no compromisso internacional da eliminação da raiva humana transmitida por cães nas Américas até 2015, onde as ações do PNPR foram fortalecidas (MASCARENHAS *et al*., 2012).

Apesar dos avanços no controle da raiva no Brasil, muitos desafios ainda estão por ser combatidos. Onde é importante uma vigilância permanente, para os diferentes componentes da cadeia de transmissão do VR. Como forma de reforçar essas atividades, bem como para manter o compromisso internacional de eliminação da raiva humana transmitida por cães nas Américas, foram pactuadas ações entre os três níveis de gestão, quais sejam: a) cobertura vacinal canina de no mínimo 80,0%, pela campanha de vacinação antirrábica nacional; b) envio de 0,2% da população canina estimada para monitoramento de circulação viral; c) envio de 100% dos morcegos encontrados mortos para diagnóstico laboratorial; e d) esquema profilático de pós-exposição completo em 100% das pessoas agredidas por morcegos, notificadas pelo sistema de informação (WADA; ROCHA; MAIA-ELKHOURY, 2011).

É de extrema importância destacar a alteração no perfil epidemiológico da raiva, por conta da urbanização, observando-se o avanço no controle do ciclo urbano e a expansão do ciclo silvestre. Onde as atividades de vigilância e controle em cães devem ser mantidas e as dos ciclos silvestres, intensificadas. Reforça-se a necessidade de a população buscar atendimento em qualquer situação de agressão; e de os profissionais de saúde permanecerem atentos à avaliação e indicação adequada e oportuna da profilaxia, quando esta se fizer necessária (WADA; ROCHA; MAIA-ELKHOURY, 2011).

3.4. A Raiva

A raiva é uma doença viral, infectocontagiosa que acomete os mamíferos, incluindo o homem (WHO, 2017). Todos os mamíferos são suscetíveis ao vírus, podendo transmiti-la (SILVA, 2013). O VR pertence à ordem Mononegaviralis, família Rhabdoviridae e ao gênero *Lyssavirus*, onde se incluem o vírus da raiva e os vírus ditos aparentes (JACKSON; WINNER, 2007). É transmitido pelo contato com a saliva de animais infectados e pelo caráter neurotrópico do vírus, apresenta um quadro clínico de encefalite aguda (JACKSON, 2010; AGUIAR *et al*., 2011; WHO, 2017).

A doença apresenta grande caráter epidemiológico, sendo uma zoonose de grande importância para a saúde pública, por conta da sua alta letalidade, ocasionando a morte de praticamente 100% dos casos após o início dos sintomas, em homens e animais infectados (WHO, 2017). Por conta do tratamento das vítimas e das medidas de controle, essa doença apresenta um alto custo social e financeiro, onde na África e Ásia são gastos cerca de 89 milhões de dólares anualmente, sendo essa população extremamente pobre (HOMMA *et al*., 2011; WHO, 2017).

3.4.1. Etiologia

O VR tem cerca de 130-180 nm de comprimento e entre 70-85 nm de diâmetro, se assemelha morfologicamente a um projétil de arma de fogo ou cilindro (SANTOS, 2016). É constituído por um nucleocapsídeo helicoidal envelopado por uma bicamada lipoproteica ou duas capas de natureza lipídica, seu genoma é formado por uma molécula linear de RNA de fita simples, o qual codifica cinco proteínas (N, M, L, G, P), com propriedades antigênicas (BATISTA; FRANCO; ROEHE, 2007).

Dentre suas proteínas antigênicas a glicoproteína G, que faz parte do envelope viral promove a atividade de neurovirulência, juntamente com a nucleoproteína N, pois essa (glicoproteína G) se liga a receptores acetilcolinergicos, promovendo a resposta patogênica (BATISTA; FRANCO; ROEHE, 2007; FLORES, 2007; KOTAIT; CARRIERI; TAKAOKA, 2009; GOMES *et al*., 2012; TEIXEIRA; DREHMER, 2017). A proteína M, que é considerada uma proteína de matriz, mantém a ligação entre o envelope e o nucleocapsídeo (FLORES, 2007). A nucleoproteína N é encontrada em grande quantidade na célula infectada, sendo responsável pela encapsidação do RNA (FLORES, 2007). Já as proteínas P e L são responsáveis pela atividade enzimática, necessária para a transcrição e replicação viral (COSTA, 2010) como é observado na figura 3.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

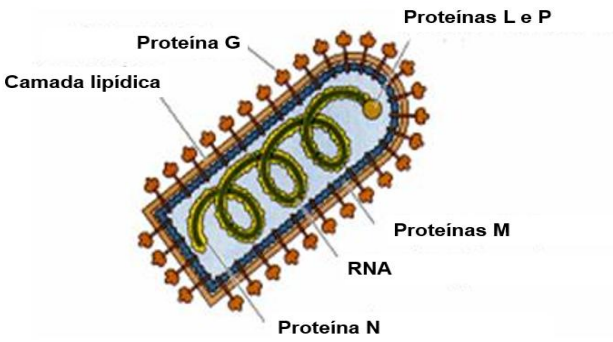


Figura 3. *Representação esquemática do vírus da raiva.*

Fonte: *Adaptado de Duarte e Drago, 2005.*

O VR é neurotrópico e sua ação no sistema nervoso central (SNC) causa quadro clínico característico de encefalomielite aguda, decorrente da sua replicação viral nos neurônios (YOUSAF *et al*., 2012). Esse vírus é sensível a diversos tipos de agentes (externos, físicos e químicos), sofrendo desativação quando entra em contato com temperaturas superiores a 60 ºC ou desnaturação quando entra em contato com substâncias químicas, detergentes e luz ultravioleta (BATISTA; FRANCO; ROEHE, 2007; GOMES *et al*., 2012). Porém o VR se mantém estável a 4 ºC por dias e quando submetido a temperaturas inferiores a -70 ºC se mantém vivo por anos (FLORES, 2007; BATISTA; FRANCO; ROEHE, 2007).

3.4.2. Tipos de vírus rábicos ou aparentados

O gênero *Lyssavirus* possui, atualmente sete genótipos (WHO, 2017). Onde podem ser divididos em:

Genótipo 1 ou RABV: vírus clássico, que infecta mamíferos terrestres, morcegos hematófagos e não-hematófagos das Américas (BRASIL, 2008). Esse é encontrado em quase todos os continentes, e inclui a maior parte dos vírus de campo, sendo utilizados na produção de vacinas (WHO, 2017).

Genótipo 2 ou LBV: Esse genótipo foi isolado pela primeira vez em morcegos frugívoros da região dos Lagos da Nigéria, no ano de 1956 e em 1974 em morcegos frugívoros da Republica da África Central (BRASIL, 2008; WHO, 2017). Esse é o único vírus relacionado a raiva que não foi isolado em humanos (CORTEZ, 2006).

Genótipo 3 ou MOKV: Foi isolado pela primeira vez de mussaranhos (*Crocidura* sp.), na Nigéria e sem seguida de felinos do Zimbabwe e da Etiópia (BRASIL, 2008). Foi encontrado em outros animais selvagens e humanos, não sendo isolado em morcegos (WHO, 2017).

Genótipo 4 ou DUVV: Foi isolado de morcegos insetívoros e humanos da África do Sul, Zimbabwe e Senegal (BRASIL, 2008). Sorotipo mais raro dos *Lyssavírus* africanos (WHO, 2017).

Genótipo 5 ou EBLV1: cepa europeia isolada de morcegos insetívoros (BRASIL, 2008). Na década de 80 o vírus foi registrado na Dinamarca e Alemanha, por conta da identificação do vírus em morcegos (WHO, 2017).

Genótipo 6 ou EBVL2: cepa também europeia, que foi isolada e descoberta por conta da morte de um biólogo suíço, que morreu de raiva na Finlândia. Também foi isolado de morcegos da espécie Myotis dasycneme na Europa (WHO, 2017).

Genótipo 7 ou ABLV: cepa australiana que foi isolada de morcegos australianos de diversas espécies em 1996 (BRASIL, 2008). Essa cepa do vírus foi responsável de promover a morte de duas pessoas (WHO, 2017). Em 2003, foram descrito novos vírus rábicos ou aparentados, isolados a partir de morcegos insetívoros, no Kirguistão, a variante AV, no Tadijkistão a variante KV e duas variantes do VR na Rússia a IV e a WCBV (BRASIL, 2008).

Por conta da diferença entre o vírus da raiva clássica (genótipo 1) e dos genótipos 2, 3, 4, 5, 6, e 7, as vacinas comumente produzidas promovem a imunização marginal contra a infecção por essas últimas cepas, porém a vacinação é de extrema importância, já que essa protege o homem e os animais do VR (WHO, 2017).

3.4.3. Ciclo Epidemiológico

O ciclo epidemiológico da raiva é divido em quatro ciclos inter-relacionados: ciclo urbano, onde os cães e gatos são incriminados como principais reservatórios; ciclo rural, representado pelos animais de produção e os morcegos hematófagos; ciclo silvestre, onde os saguis, cachorro do mato, raposas, entre outros animais silvestres são incriminados como reservatórios do vírus e ciclo aéreo representado pelos morcegos (Figura 4) (BRASIL, 2008; SANTOS, 2016).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

A raiva, afeta diferentes espécies, de acordo com o país ou região incriminada. No Brasil a raiva é endêmica, apresentando variações de acordo a região, tendo os morcegos grande importância na manutenção da cadeia de transmissão selvagem e o cão como principal reservatório, na manutenção do ciclo urbano (CALDART *et al*., 2016).



Figura 4. *Ciclo epidemiológico da raiva.*

Fonte: *Brasil, 2008.*

3.4.4. Patogenia, Sinais Clínicos e Diagnóstico

A transmissão do VR, ocorre quando a saliva de algum animal contaminado, penetra no tecido de um indivíduo saudável, por meio de mordedura, arranhadura e lambedura de mucosas e pele lesionada, sendo o primeiro fator designado como a principal fonte de infecção (BRASIL, 2009a). Outras vias de infecção são relatadas na literatura, como inalação do VR por via aérea, transplante de órgãos, vias transplacentária, sexual e mamária, porém a probabilidade de infecção por essas vias, são remotas em seres humanos (KOTAIT; CARRIERI; TAKAOKA, 2009; YOUSAF et al., 2012). Após a inoculação, o VR multiplica-se no ponto de inoculação, atinge o sistema nervoso periférico e migra para o SNC protegido pela camada de mielina. A partir do SNC, dissemina-se para vários órgãos e glândulas salivares, onde também se replica e é eliminado na saliva das pessoas ou animais infectados (BRASIL, 2008).

Após o período de incubação do VR, que varia de um mês a um ano, os sinais clínicos começam a aparecer, apresentando duas formas clínicas: raiva paralítica e raiva furiosa, sendo ambas as formas de curso letal (BRASIL, 2009c; MORENO; CAMPOS, 2016). Na forma paralítica, ocorre parestesia, febre elevada e intermitente, dor e prurido no sítio da mordida, evoluindo para paralisia muscular. Alterações cardiorrespiratórias, retenção urinária, obstipação intestinal, espasmos musculares principalmente na laringe e faringe, são observado na forma paralítica, onde o paciente evolui para óbito em até 14 dias. Já na forma furiosa é observado ansiedade, hiperexcitabilidade, febre, delírios, espasmos musculares involuntários, hidrofobia, sialorréia intensa, disfagia, aerofobia, hiperacusia, fotofobia e morte entre cinco e sete dias (REIS *et al*., 2003; BRASIL, 2009c; PEDROSO *et al*., 2009). Não há tratamento comprovadamente eficaz e específico para a raiva, pois uma vez clinicamente apresentada, as possibilidades de cura são remotas (GOMES *et al*., 2012).

Para o diagnóstico da raiva, é de extrema importância a realização dos exames laboratoriais em conjunto com os sinais clínicos do paciente (CORTEZ, 2006). As principais técnicas para diagnóstico da doença são: pesquisa de antígenos rábico realizada pela prova de imunofluorescência direta, apresentando alta sensibilidade, especificidade e diagnóstico rápido; busca de corpúsculos de Negri por exame microscópico de tecido encefálico e isolamento do vírus da raiva em amostras de tecido ou por inoculação intracelular em ratos (BRASIL, 2008; WHO, 2017).

3.4.5. Tratamento

No mundo de 1970 a 2003, apenas cinco pessoas sobreviveram a raiva, sendo que em três casos de infecção o VR foi transmitido pelo cão; um, pelo morcego; e um, por aerossol. Em, todos os casos houve o início do esquema profilático com vacina, porém nenhum paciente recebeu o soro. Nos Estados Unidos no ano de 2004, uma paciente que foi infectada por um morcego, foi submetida a um tratamento com antivirais e indução de coma, sobrevivendo sem necessidade de vacina e soro. A esse tratamento foi dado o nome de Protocolo de Milwaukee (BRASIL, 2014).

No Brasil, no ano de 2008, na cidade de Recife-PE, foi realizado um tratamento de um jovem de 15 anos, infectado com o VR pela mordida de um morcego hematófago. Nesse paciente brasileiro foi feito um tratamento semelhante a paciente norte-americana, observando a eliminação do vírus e recuperação clínica do paciente. Ao protocolo brasileiro foi dado o nome de Protocolo de Recife, devido o

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

primeiro caso de cura no país ter sido registrado nesse estado nordestino (BRASIL, 2009c).

Não existe um tratamento específico para a raiva, pois essa doença é considerada de elevada letalidade, onde a prevenção é direcionada para o tratamento profilático, quando tiver suspeita de exposição ao vírus (BRASIL, 2008). Quando ocorre o contato e consequentemente a lesão provocada por algum animal suspeito, é imprescindível a limpeza do ferimento com água corrente e sabão ou algum detergente, seguida da aplicação de etanol ou solução aquosa de iodo, tendo em vista diminuir o risco de infecções secundárias (WHO, 2017).

Em seguida o indivíduo deve ser encaminhado ao serviço de saúde pública, onde será avaliado o ferimento e consequentemente ocorrer o início do tratamento pós exposição. O tratamento profilático pós-exposição é baseado nas características da lesão provocada pelo animal agressor e na possibilidade de observação deste. Devem ser levado em consideração as características do animal agressor, o estado de saúde no momento da agressão, a possibilidade de observação por dez dias e procedência e hábitos de vida do animal. Essas observações são aplicadas apenas a agressões por cães e gatos (RIGO; HONER, 2005; BRASIL, 2014).

A profilaxia pré-exposição deve ser indicada para pessoas com risco de exposição permanente ao vírus da raiva, durante atividades ocupacionais exercidas por profissionais como: médicos veterinários, biólogos, auxiliares e demais funcionários de laboratório de virologia e anatomopatologia para raiva, estudantes de Veterinária, Biologia e Agrotécnica, pessoas que atuam no campo na captura, vacinação, identificação e classificação de mamíferos passíveis de portarem o vírus, bem como funcionários de zoológicos, pessoas que desenvolvem trabalho de campo (pesquisas, investigações ecoepidemiológicas) com animais silvestres e espeleólogos, guias de ecoturismo, pescadores e outros profissionais que trabalham em áreas de risco (SILVA JÚNIOR, 2010; YOUSAF *et al*., 2012; BRASIL, 2014).

CONCLUSÕES

A raiva é uma doença complexa e medidas curativas ainda são pouco eficazes, de forma que a prevenção através da vacinação de animais, desenvolvimento de centros de zoonose e o uso da terapia pós-exposição são as melhores escolhas para permitir a integridade da saúde.

REFERÊNCIAS

1. Aguiar, T. D. D.; Costa, E. C.; Rolim, N. R.; Romijin, P. C.; Morais, N. B.; Texeira, M. F. S. Risco de transmissão do vírus da raiva oriundo de sagui (Callithrix jacchus), domiciliado e semidomiciliado, para o homem na região metropolotana de Fortaleza, Estado do Ceará. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, **2011**, *44,* 3.
2. Babboni, S. D. Avaliação da imunidade ativa de cães primovacinados (Fuenzalida & Palácios) no interval de campanhas anuais de vacinação contra a raiva no município de Botucatu/SP. [Dissertação]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista. **2011**.
3. Babboni, S. D.; Modolo, J. R. Raiva: origem, importância e aspectos históricos. *UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde*, **2011,** *13*, 1.
4. Baer, G. M. The natural history of rabies. 2 ed., Boca Raton: CRC Press, **1991**.
5. Batista, H. B. C. R.; Franco, A. C.; Roehe, P. M. Raiva: uma breve revisão. *Acta Scientiae Veterinariae*, **2007,** *35*, 2.
6. Bourhy, H.; Dautry-Varsat, A.; Hotez, P. J.; Salomon, J. Rabies, Still Neglected after 125 years of vaccination. *Plos Neglected Tropical Diseases*, **2010,** *4*, 11.
7. Brasil. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Protocolo para Tratamento de Raiva Humana no Brasil. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, **2009c,** *18*, 4.
8. Brasil. Ministério da Saúde. Análise da situação epidemiológica da raiva no Brasil, no período de 2011 a 2016. Ministério da Saúde, **2017c**.
9. Brasil. Ministério da Saúde. Brasil – Casos de Raiva Humana, Grandes Regiões e Unidades Federativas 1990 a 2017. Ministério da Saúde, **2017a**.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

10. Brasil. Ministério da Saúde. Brasil – Óbitos de Raiva Humana, Grandes Regiões e Unidades Federativas 1990 a 2017. Ministério da Saúde, **2017b**.

11. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Vigilância em Saúde: Zoonoses. Brasília: Ministério da Saúde. **2009b**.

12. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Normas Técnicas de Profilaxia da Raiva Humana. 1 ed. Brasilía: Ministério da Saúde. **2014**.

13. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Guia de Vigilância Epidemiológica. 7 ed. Brasília: Ministério da Saúde. **2009a**.

14. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de Diagnóstico Laboratorial da Raiva. 1 ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, **2008**.

15. Brasil. Portal da Saúde. Raiva, **2017**. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/secretarias/svs/raiva>. Acesso em: 5 fev. 2018.

16. Caldart, E. T. Mata, H.; Canal, C. W.; Ravazzolo, A. P. Análise filogenética: conceitos básicos e suas utilizações como ferramenta para virologia e epidemiologia molecular. *Acta Scientiae Veterinariae*, **2016,** *44*, 1.

17. Chaves, L. B. Produção de anticorpos monoclonais para caracterização de variantes antigênicas brasileiras de vírus da raiva. [Tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, **2010**.

18. Cortez, T. L. Raiva urbana: epidemiologia e controle. [Dissertação]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, Botucatu, **2006**.

19. Costa, A. E. B. Efeitos da radiação gama na imunogenicidade das ribonucleoproteínas (RNPs) do vírus da raiva e purificação de anticorpos anti-RNPs para diagnóstico. [Dissertação]. São Paulo: Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares, **2010.**

20. Duarte, L. Drago, M. C. A raiva. **2005**. Disponível em: <http://home.uevora.pt/~sinogas/TRABALHOS/2004/Raiva.htm9>. Acesso em: 25 fev. 2018.

21. Gomes, A. P.; Esperdião-Antonio, V.; Mendonça, B. G.; Benedito, H. P. L.; Prado, M. R. M. C.; Prado Junior, P. P.; Henriques, B. D.; Santana, L. A. Raiva humana. *Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica*. **2012,** *10*, 4, 1.

22. Homma, A.; Martins, R. M.; Leal, M. L. F.; Freire, M. S.; Couto, A. R. Atualização em vacinas, imunizações e inovações tecnológica. *Ciência e Saúde Coletiva*, **2011**,*16*, 2.

23. Jackson, A. C.; Winner, W. H. Rabies. 2 ed. Ney York: Academic Press, **2007**.

24. Jackson, A. C. Atualização sobre a patogênese da raiva. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, **2010,** *1*, 1.

25. Kotait, I.; Carrieri, M. L.; Carnieli Júnior, P.; Castilho, J. G.; Oliveira, R. N.; Macedo, C. I.; Ferreira, K. C. S.; Achkar, S. M. Reservatórios silvestres do virus da raiva: um desafio para a saúde pública. *Boletim Epidemiológico Paulista*, **2007*,*** *4*, 40.

26. Kotait, I.; Carrieri, M. L.; Takaoka, N. Y. Raiva – Aspectos gerais e clínicos. 8 ed. São Paulo: Instituto Pasteur, **2009**.

27. Lima, E. F.; Riet-Correa, F.; Castro, R. S.; Gomes, A. B.; Lima, F. S. Sinais clínicos, distribuição das lesões no Sistema nervosa e epidemiologia da raiva em herbívoros na região Nordeste do Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, **2005,** *25*, 4.

28. Lima, F. G.; Gagliani, L. H. Raiva: aspectos epidemiológicos, controle e diagnóstico laboratorial. *Revista UNILIS Ensino e Pesquisa*, **2014,** *11*, 22.

29. Lopes, C. N. C. Transferência de tecnologia de vacinas: aprendendo para aprimorar. [Tese]. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro, **2016**.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

30. Mascarenhas, M. T. V. L.; Cerqueira, R. B.; Cardim, L. L.; Bittencourt, T. C. B. S. C.; Peneluc, T.; Brito, V. S.; Silva, M. M. N.; Bavia, M. E. Análise espacial dos dados do programa de profilaxia da raiva no município de Lauro de Freitas, Bahia, No período de 1999-2004. *Revista Baiana de Saúde Pública*, **2012,** *36*, 1.

31. Mascarenhas, M. T. V. L.; Cerqueira, R. B.; Cardim, L. L.; Peneluc, T.; Cardim, L. L.; Silva, V. S.; Bittencourt, T. C. B. S. C.; Bavia, M. E. Geotecnologias na análise da população canina para o controle da raiva, considerando fatores socioeconômicos e demográficos. Município de Lauro de Freitas (BA) – 1999-2004. *Revista Baiana de Saúde Pública*, **2009,** *33*, 3.

32. Moraes, J. E. C.; Zanata, A. F.; Thomé, C. M.; Moreira, D. C. B.; Presotto, D.; Costa, I. C.; Borges, M. S.; Rodrigues, R. C. A.; Masttins, R. S. Raiva felina no município de Jaguariúna, Estado de São Paulo, em 2010. *Boletim Epidemiológico Paulista*, **2011,** *8*, 96.

33. Morato, F.; Ikuta, C. Y.; Ito, F. H. Raiva: uma doença antiga, mas ainda atual. *Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP*, **2011,** *9*, 3.

34. Moreno, M. E.; Campos, A. G. Raiva animal – revisão de literatura. In: Congresso de Iniciação Científica da Fundação Educacional de Ituverava. 2016. Ituverava: Eventos Científicos da Fundação Educacional de Ituverava, **2016**.

35. Organizacíon Panamericana de la Salud – PAHO. Rabia, **2018**. Disponível em: <http://www.paho.org/panaftosa/index.php?option=com_content&view=article&id=509:rabia&Itemid=0>. Acesso em: 18 fev. 2018.

36. Pedroso, P. M. O.; Colodel, E. M.; Pescador, C. A.; Arruda, L. P.; Driemeier, D. Aspectos clínicos e patológicos em bovinos afetados por raiva com especial referência ao mapeamento do antígeno rábico por imuno-histoquímico. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, **2009,** *29*, 11.

37. Queiroz, L. H.; Carvalho, C.; Buso, D. S.; Ferreira, C. I. L.; Pedro, W. A. Perfil epidemiológico da raiva na região Noroeste do Estado de São Paulo no period de 1993 a 2007. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical,* **2009,** *42*, 1.

38. Reis, M. C.; Costa, J. N.; Peixoto, A. P. C.; Figueiredo, L. J. C.; Menezes, R. V.; Ferreira, M. M.; Sá, J. E. U. Aspectos clínicos e epidemiológicos da raiva bivina apresentados na casuística da clínina de bovinos (oliveira dos Campinhos, Santo Amaro, Bahia), Universidade Federal da Bahia, durante o período de janeiro de 1990 a dezembro de 1999 (Relato de caso). *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, **2003,** *4*, 1.

39. Rigo, L; Honer, M. R. Análise da profilaxia da raiva humana em Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil, em 2002. *Caderno de Saúde Pública*, **2005,** *21*, 6.

40. Flores, E. F. Virologia Veterinária. Santa Maria: 1 ed. Editora da UFMS, 2007.

41. Santos, G. R. Característica epidemiológica e molecular da raiva em bovinos no estado de Pernambuco, Brasil. [Tese]. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, **2016**.

42. Silva Junior, A. M. Proposta de gestão on-line das informações de vigilância epidemiológica de eventos adversos pós-vacinação. [Dissertação]. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, **2010.**

43. Silva, M. L. C. R.; Lima, F. S.; Gomes, A. A. B.; Azevedo, S. S.; Alves, C. J.; Berbadi, F.; Ito, F. H. Isolation of rabies virus from the parotid salivary glands of foxes (Pseudalopex vetulus) from Paraíba State, Northeastern Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, **2009,** *40*, 3.

44. Silva, M. V.; Xavier, S. M.; Moreira, W. C.; Santos, B. C. P.; Esbérard, C. E. L. Vírus rábico em morcegos Nyctinomops laticaudatus na cidade do Rio de Janeiro, RJ: isolamento, titulação e epidemiologia. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, **2007,** *40*, 4.

45. Silva, R. R. Diagnostico da raiva em quirópteros de São José do Egito, sertão de Pernambuco. [Trabalho de Conclusão Curso]. Vitória de Santo Antão: Universidade Federal de Pernambuco,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Vitória de Santo Antão, **2013**.

46. Teixeira, A. P.; Drehner, C. L. Levantamento epidemiológico da secretaria municipal de saúde para animais vacinados contra raiva e castrados no ano de 2017 no município de Braganey/PR. In: Congresso Nacional de Medicina Veterinaria FAG. 2017. Cascavel: Centro Universitário Fundação Assis Gurgacz, **2017**.
47. Veloso, R. D.; Aerts, D. R. G. C.; Fetzer, L. O.; Anjos, C. B.; Sangiovanni, J. C. Motivos de abbandono do tratamento antirrábico humano pós-exposição em Porto Alegre (RS, Brasil). *Ciência e Saúde Coletiva*, **2011**, *16*, 2.
48. Wada, M. Y.; Rocha, S. M.; Maia-Elkhoury, A. N. S. Situação da raiva no Brasil, 2000 a 2009. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, **2011,** *20*, 4.
49. Wilason, D. E.; Reeder, D. M. Mammal species of the world: A taxonomic and Geographic Reference. 3 ed. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, **2005**.
50. World Health Organization – WHO. Rabies, **2017**. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs099/en/>. Acesso em: 5 fev. 2018.
51. World Health Organization – WHO. Weekly epidemiological record, *World Health Organization*, **2017**, *92*, 7. Disponível em: <http://www.who.int/wer/2017/wer9207/en/>. Acesso em: 5 fev. 2018.
52. Yousaf, M. Z.; Qasim, M.; Zia, S.; Khan, M. R.; Ashfaq, U. A.; Khan, S. Rabies molecular virology, diagnosis, prevention and treatment. *Virology Journal*, **2012,** *9*, 1.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

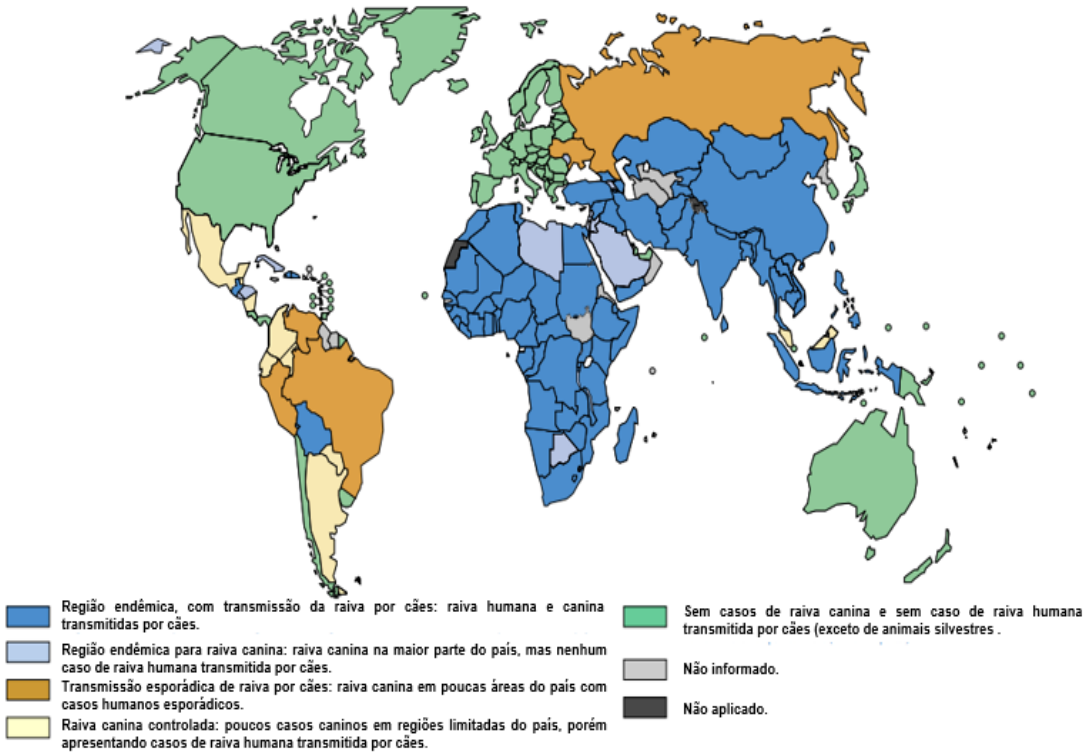


Figura 1. *Situação epidemiológica da raiva no ano de 2016.*

Fonte: *WHO, 2017.*

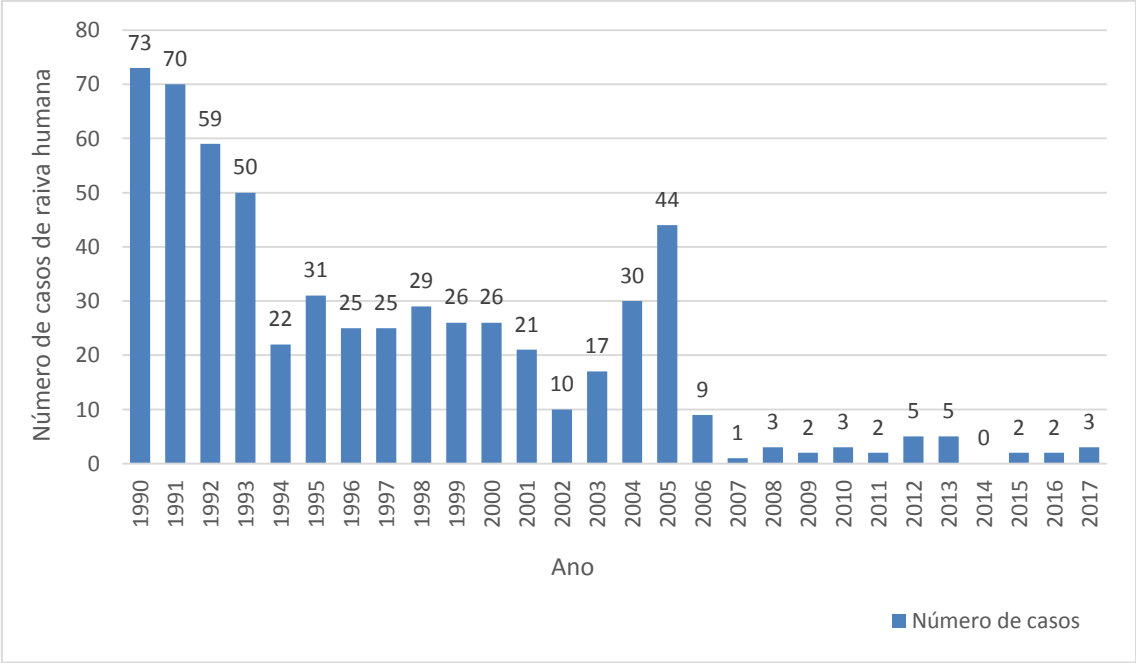


Figura 2. *Casos de raiva humana no Brasil entre os anos de 1990 a 2017.*

Fonte: *Brasil, 2017a.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

SÍNTESE DE CICLOCARBINOL E CICLOCARBINOLATO DERIVADOS DO CIANTRENO E SUA EFICÁCIA ANTIFUMOS PARA OS COMBUSTÍVEIS DIESEL

SYNTHESIS OF CYCLOCARBINOL AND CYCLOCARBINOLATE DERIVATIVES OF CYMANTRENE AND THEIR ANTI-SMOKE EFFECTIVENESS FOR DIESEL FUELS

СИНТЕЗ ЦИКЛОКАРБИНОЛЬНЫХ И ЦИКЛОКАРБИНОЛЯТНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ЦИМАНТРЕНА И ИХ АНТИДЫМНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬДЛЯ ДИЗЕЛЬНЫХ ТОПЛИВ

GULIYEVA,Esmira A.[1*]; GURBANOV, Zaur H.[2]; JABIYEV, Yadigar A.[2]; SHEKILIYEV, Fikret I.[2]; SULEIMANOV, Gulmamed Z.[2]; ABBASOVA, Tamilla A.[2]

[1]Academician M.Nagiyev Institute of Catalysis and Inorganic Chemistry of NAS of Azerbaijan, Laboratory of Complex Compounds of Rare Metals,113 HuseynJavid Str., ZIP code AZ1141, Baku – Azerbaijan (phone: +994507334864)

[2]Academician M. Nagiyev Institute of Catalysis and Inorganic Chemistry of NAS of Azerbaijan, Laboratory of Nano-Catalysts Based on Metal-Organic Compounds,113 HuseynJavid Str., ZIP code AZ1141,Baku – Azerbaijan (phone: +994 0503272196)

** Corresponding author*
e-mail: kulirva@university-of-law.in.net

Received XX June 2017; received in revised form XX November 2018; accepted XX December 2018

RESUMO

Os resultados do desenvolvimento da técnica de síntese dederivados de ciclocarbinol do ciantreno e a produção de relevantes complexos de metais de ciclocarbinolato de bário - novos aditivos antifumos avançados, foram apresentados. Dados comparativos sobre a eficácia antifumo de compostos sintetizados e aditivos antifumo conhecidos para combustíveis diesel também foram apresentados. Estabelecidos, os resultados do desenvolvimento de um método de síntese de um único estágio de derivados de ciclocarbiol do ciantreno podem ser considerados como um processo básico para a produção de aditivos antifumo altamente eficazes para combustíveis diesel que atendam às exigências ecologicas na operação de veículos a diesel.

Palavras-chave: cimantreno, eficácia anti-fumaça, ciclocarbióis, ciclopentanona, ciclohexanona, cimantreno de lítio, complexos de metal carbinolato.

ABSTRACT

The results of the development of synthesis technique of cyclocarbinol derivatives of cymantrene and the production of relevant barium cyclocarbinolate metal complexes – new, advanced anti-smoke additives were presented. Comparative data on the anti-smoke effectiveness of synthesized compounds and known anti-smoke additives for diesel fuels were also presented. Established, results of the development of a single-stage synthesis method of cyclocarbinol derivatives of cymantrene can be assumed as a basic process for producing high-effective anti-smoke additives to diesel fuels that comply with the requirements of ecology in operation of diesel vehicles.

Keywords: cymantrene, anti-smoke effectiveness, cyclocarbinols, cyclopentanone, cyclohexanone, lithium cimantrene, carbinolate metal complexes.

АННОТАЦИЯ

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

В работе приведены результаты разработки технологии синтеза производных циклонабинолацимантрона и производства соответствующих комплексов циркокарбинолата бария – новых, современных противодымных добавок. Также были представлены сравнительные данные о противодымной эффективности синтезированных соединений и известных противодымных добавок для дизельных топлив. Установлено, что результаты разработки метода одностадийного синтеза производных циклокарбинолацимантрена можно считать основным процессом получения высокоэффективных противодымных добавок к дизельным топливам, которые соответствуют требованиям экологии во время эксплуатации дизельных транспортных средств.

Ключевые слова:цимантрен, антидымная эффективность,циклокарбинолы,циклопентанон,циклогексанон, литий-цимантрен,комплексы карбинолатных металлов.

INTRODUCTION

Man-made impacts of vehicular transport on environment increases steadily and at present nearly 40% of toxic substances and soot are fed into the atmosphere with exhaust gases of the internal combustion engine. It should be also noted that growth of diesel transport, expectations on which were related to decreasing the level of harmful emissions into the atmosphere, resulted in sharp aggravation of the problem since diesel fuels throw out up to 1 percent soot in the form of solid particles (SP) of total fuel consumption (Tartakovsky and Sheintuch, 2018; Boot *et al.*, 2017; Zhao *et al.*, 2015).

Improvement and usage of ecologic clean, matching to world standards, automotive and diesel fuels is one of the most important tasks of modern fuel-energetic complexes (Zakharova *et al.*, 1995; Zakharova *et al.*, 2004a).

Development and usage of ecologic clean additives that improve detonation resistance and anti-smoke quality of motor fuels, improving wherein its ecologic characteristics can be attributed to such factors.

Additives that improve cetane number of diesel fuels have important meaning for them (Kuznetsov, 2007; Han and Yao, 2015). Cetane increasing additives accelerate the initial pre-burning reactions and promote the formation of new active centers of reaction. As lower cetane number, as higher the rigidity of works of diesel. The cetane number of euro diesel working in Euro-3 and Euro-4 standards is regulated by Europe E № 590-1999 and 590-2004 standards respectively, require minimal cetane number 51. Also, other engine performance indicators are depending on the meaning of cetane number: its squeak, average effective combustion pressure, specific fuel consumption, exhaust gas temperature, engine build-up, smoke and odor of exhaust gases.

With the increasing of cetane number of engines, engine starting is facilitated and increases the medium pressure of combustion, decreases other indicators, at all engine performance improves (Han and Yao, 2015).

In the whole world demand for high-quality diesel fuels is increasing in connection with the growth of the increase in production of cars with diesel engines. Along with this the question about the necessity of development of anti-smoke additives, increasing the quality of diesel fuels, which is a topical problem of modern energy complexes raises.

One of the prospective directions of decreasing emission of solid particles (SP) with exhaust gases is the introduction of antismoke, multifunctional additives, particularly, barium containing compounds of different nature into fuel which allows reaching targeted goals without changing the construction of diesel and system of their feed system (Li *et al.*, 2013).

However, it is known that despite prevalence of using barium antismoke additives in diesel fuels, for a number of reasons the last, such as growth of ash-content, filtration coefficient of fuel, higher content in fuels and the presence of excessive oxide and barium carbonate in gas emissions, do not also completely meet all requirements of ecology (Mitusova *et al.*, 2015; Kolobova *et al.*, 1978; Kulchitsky, 2004; Suleimanov *et al.*, 2007; Napolitano *et al.*, 2018).

In this connection additives based on

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

organo-metal compounds which contain barium and easily ionizable metals of variable valency of IV period of Periodic System of elements are of great interest and they show a synergetic catalytic effect in burning process of soot in fuel combustion at low concentrations.

The target of these researchers in the development of available synthesis techniques of mono-, and binuclear cycloalkylcarbinol derivatives of ferrocene and cymantrene (cyclopentadienyl manganese tricarbonyl), as well as the study of their properties as more effective nanocomposite additives to diesel fuels.

MATERIALS AND METHODS

The basis of experimental researches are composed:

X-ray and thermogravimetric analysis of substances of additives, researching of the surface tension of clean fuel and fuel with additive, toxicity studies, effectivity and economy of a full-size diesel, working on different pressure and speed modes on clean fuel and fuel with the additive.

In order to study the peculiarities of the occurrence of exothermic reactions during the thermal decomposition of the developed additives to fuel, their laboratory-chemical studies were carried out (Safarov *et al.*, 2018; Meißner *et al.*, 2016).Elemental analyses of chemical compounds gained compounds were performed by X-ray and microanalytical method. The X-ray diffraction pattern was obtained with a DRON-3M diffractometer.The thermogravimetric diagrams of the complexes are shown in Figure 1

For the researching of phase transformations and chemical reactions, accompanied by thermal effects, a thermogravimetric analysis of the obtained compounds on the OD-112 derivato graph was carried out.

Bench tests of the diesel 4h11/12.5 on standard fuel and fuel with anti-smoke additives were carried out in the engine testing laboratory of the FGBOU VPO in accordance with GOST 18509-88 at the rolling-brake stand KI-5543 GOSNITI (GOST 18509-88).

For measuring the concentrations of main toxic components (CO, CH, NO) and the smokiness of OG diesel, working on fuel with different anti-smoke additives, the gas analyzer META AVTO-TEST was used. The cetane number of diesel was found by IDN method. The smoke opasity of the exhaust gases is measured on the modes of the external speed characteristic from the maximum speed of rotation to the greater of two: 0.45 n_{max} or 16.7s^{-1}, and the smoke opasity is measured at least six times at equal intervals of rotation frequencies, including maximum torque, and free acceleration. The measurements are carried out on diesel fuel of grade L according to GOST 305-82, density at 20 °C 820 - 830 kg / m^3 (GOST 305-82). The excess pressure of exhaust gases in the chamber of the measuring device during the measurement was in the range of 490 N / m^2 (50 mm Hg) - 585 N/m^2 (60 mm Hg). The temperature of the gas in the measuring chamber of the device must be at least 343 K (70 °C) and not higher than the maximum permissible value specified by the device manufacturer. Smoke opasity in each mode was measured three times, while the difference in the measurement results did not exceed 4% in units of the instrument scale. The interval between consequental measurements did not exceed 1 min. The arithmetical average of the three measurements is taken as the result of the measurement.

RESULTS AND DISCUSSION

It is known that cymantrene and its many derivatives have properties of antiknock additives for engine fuels which substitute ecologically harmful tetraethyllead (TEL) (Suleimanov *et al.*, 2007).

Target cymantrene– cycloalkylcarbinol derivatives were synthesized on the basis of two basic reactionary directions. (Equation1)

The first was based on the interaction of organolithium derivative (Equation 2) of cymantrene,$(OC)_3MpC_5H_4Li$with corresponding cyclic ketones, where=4-6.

The reaction of the reciprocal interaction of cyclopentyl and ketone at temperatures of $30 \div 35^0$C but with the reaction yield of 20–30% resulted in the production of an intertype complex of simantrenyl lithium carbinolate. Conversely, the reaction at temperatures of 0^0C ÷ -13^0C resulted in a variation in the yield of the desired product dimantrenylpentylcarbinol in the range of 70÷82%. (Equation3)

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

It should be noted that according to the same rule with the reaction yield of 68–75% was received simantrenylcyclohexylcarbinol complex.(Equation 4).

The second direction includes the direct oxyalkylation of cymantrene with cycloalkylketons in phase-transfer catalysis. Earlier under these conditions, we have obtained cymantrenyl-carbinols of linear structure (Korchagin and Filonenko, 1997).

On the example of cyclopentanone transformation, as well as cyclohexanone according to the first reactionary direction it was established that independent of reaction temperature and polarity of reaction medium different cycloalkylcarbinolate and ether derivatives and carbine complexes of Fischer are formed as basic products which after relevant neutralization of reaction medium (Equation 5) are converted to target products (Equation 6)p=4 (I); p=5(II) with yield not exceeding 10-14 % on cymantrene.

This fact suggests that the synthesis of derivatives I and II by the first reactionary direction cannot be considered perspective, due to the low yield of target products, multiple stages and large losses of components of the reaction mixture in their isolation.

In development plan of a single-stage synthesis method of I and II, the second reaction of direct oxyalkylation of cymantrene during the interaction both with cyclopentanone and cyclohexanone under interphase-transfer catalysis is more effective.

Water (inorganic phase creator) and petroleum ether – a light fraction of petroleum $T_{N.к}$ 40°C-$T_{K.к.}$ 80°C (organic phase creator) were used in the oxyalkylation process as phrase creators.

Reactionary components (cymantrene and relevant cyclic ketones) were added into the organic phase, but acid catalyst (92-94 % H_2SO_4) was added into inorganic phase. Quaternary ammonium salt – diethyl ammonium naphthenate(Equation 7)was used as an interphase transfer catalyst.

When developing synthesis technique the fact of the possible addition of cymantrene into both aliphatic and aromatic aldehydes and ketones only under high acidity of reaction medium (pK - 21-22) was considered.

When choosing optimum conditions for oxyalkylation of cymantrene relevant cyclic ketones complied with not only volume ratio of organic and inorganic phases equal to 20:1, but also weight ratio of acid catalyst *(H_2SO_4),* both to ketones and interphase- transfer catalyst (DEANaf), correspondingly (1:1).

Conditions of producing cymantrenylcyclopentyl-(hexyl-) carbinols by oxyalkylation of cymantrene with cyclopentanone or cyclohexanone using H_2SO_4 - DEANaf of catalytic system are given in Table 1.

Studies on the dependence of yield of target products on the oxyalkylation temperature of cymantrene with cyclic ketones showed that even at room temperature decomposition of metal complexes occurs due to the impact of daylight. Thus, upon absorption of energy of light photons, decarbonylation of complexing metal (*Mn*) occurs initially with the further complete decomposition of the compound.

Oxyalkylation of cymantrene is to be conducted in complete isolation from the impact of light flux at a temperature, not higher than-10°C. When following synthesis conditions indicated in table 1, the yield of relevant cymantrenecyclopentyl-(hexyl-) carbinols, I and II for cymantrene makes 86-89%.

Method of isolating target products I, II from reaction mixture was reduced to the following sequence of procedures.

First, the reaction mixture was neutralized with 5 % solution of$NaHCO_3$, the organic layer was removed and after dehydration, the solvent was completely evaporated, and the oily residue was extracted twice with diisopropyl ether. The extracts were combined together and after evaporation of diisopropyl ether derivatives, I and II were extracted in pure form.

Their elemental composition that corresponds to chemical formulas $C_{12}H_{13}MpO_4(1)$ and $C_{14}H_{15}MpO_4(P)$was established using microanalysis method.

It appears that unlike cymantrene its derivatives I and II are liquid products with density of d^{20} =1,257g/cm^3(1); d^{20} = 1,269 g/cm^3 (II).

It was established that in the interaction with *LiOH(NaOH)* in alkali medium*(pH*=8-9) derivatives I and II form relevant alkoxides(III, IV), but in aqueous-(Equation8; Equation9) alcoholic medium in the interaction with $Ba(OH)_2$disolvate salt of barium alkoxides are

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

formed, where π =4,5 (V-VI).Cymantrenecyclopentyl(hexyl) carbinols and their barium derivatives are well soluble both in different sorts of gasoline and their fractions and in diesel fuels.

For example, maximum solubility of derivatives I-V at 20°C in 95 RON varies in the range of 10 ÷ 24 g/l, but in diesel fuel, with a cetane number of 40, it varies in the range of 2÷8,7 g/l.

It was established that solubility of carbinols (I, II) in gasoline is better than cymantrene, but barium derivatives (V-VI) in diesel fuel are better soluble than in gasoline.

Study of antismoke effectiveness of both carbinols and barium carbinolate derivatives of cymantrene was performed relating to diesel fuel with a cetane number of 38 and density of d^{20}=0.856g/cm^3. Benzene was used as a standard to determine antismoke effectiveness.

Table 2 represents the motor test results of the antismoke effectiveness of synthesized carbinol and carbinolate derivatives of cymantrene.

These tests (in conformity with GOST 17.2.2.01-84) showed that after adding compounds I-II and V-VI into diesel fuels in the range of 0.02=0.035 g/l, the last show a rather high ability to reduce smoke emission at an average working load of engine, barium derivatives (V-VI) are more effective than carbinol derivatives and cymantrene (GOST 17.2.2.01-84).

Considerably lower concentrations of synthesized derivatives of cymantrene which were added into diesel fuel, also reduce the emission of barium compounds into the environment to a minimum that significantly differs them from known industrial antismoke barium additives.Some physico-chemical properties of the complexes obtained are shown in table 3.

It should be noted that when adding a large amount of antismoke additive ECO-1 and barium additive IChP-706 into the composition of diesel fuel, 0.4 and 0.5% (mass) correspondingly, amount of soot decreases only 30-40% in exhaust gases of diesel fuel at an average working load (Gladkov *et al*., 1984; Imanov, 2013).

Thus, results of the development of a single-stage synthesis method of cyclocarbinol derivatives of cymantrene can be assumed as a basic process for producing high-effective antismoke additives to diesel fuels that comply with the requirements of ecology in operation of diesel vehicles (Imanov *et al*., 2013; Emelyanov *et al*., 1998; Zakharova *et al*., 2004b).

CONCLUSIONS:

New anti-smoke additives made based on of zymantrene derivatives, for decreasing the smokiness during the burning of engine fuels were developed.

It was established out that additives made based on metal-organic compounds, that include barium and sodium, very effectively decrease the smokiness.

The comparison results of presenting and new-gained anti-smoke additives to diesel showed that they decrease smokiness on the average by 50-75%, by the content of mono-oxide of carbon and hydrocarbons by 20-40%.

Effectivity of developed additives was experimentally confirmed. It was shown that when the addition of 0.05 g / l of cymantrenylcyclohexylcarbinol to the fuel is effective, 68%, cymantrenylcyclopentyl sodium carbinol is 93%, and cymantrenylcyclohexyl sodium carbonylate is 95%.

It was found that nanocomposite solutions prepared on the basis of carbinol derivatives of ferrocene are more ecologically safe anti-smoke additives

The dependence between cetane number of diesel and anti-smoke effectiveness of composite material was established.

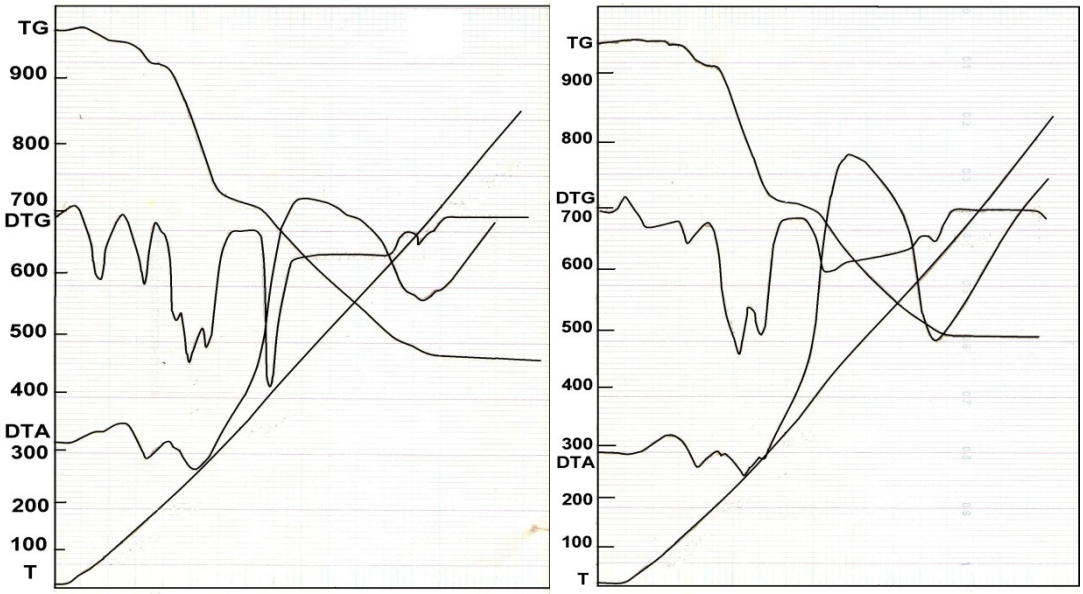
REFERENCES:

1. Boot M.D., Tian M., Hensen E.J.M., Sarathy S.M. *Progress in Energy and Combustion Science*, **2017**, 60, 1-25
2. EmelyanovV.E., SilnikovaL.V., ZverevI.K., Sokolov V.V. *Chemistry and Chemical Technology*, **1998**, 4, 961-966.
3. GladkovO.A., BarnshteinE.V., AlievZ.E. *Drive Engineering*,**1984**, **7**, 52-58.
4. GOST 17.2.2.01-84. *Protection of Nature. Atmosphere. Diesel engines for automobiles. Smoke of exhaust gases. Norms and methods of measurement.* Moscow:

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Standardinform, **1985.**
5. GOST 18509-88. Diesel tractors and combine harvesters. Methods of bench tests. Moscow: The USSR State Committee for Standards, **1988.**
6. GOST 305-82. Fuel diesel. Technical specifications. Moscow: Standardinform,**1983**.
7. Han W-Q.,Yao Ch-D. *Fuel*, **2015**, 150, 29-40.
8. ImanovE.V.*Synthesis, structure and study of the properties of cyclopentanol and cyclohexanol derivatives of ferrocene and cymantrene*. Author's abstract of the Candidate of Chemistry,Azerbaijan: NAS Azerbaijan, **2013**.
9. ImanovE.V., VeliyevR.A., RzaevaA.R. *Natural and Technical*,**2013**, 2, 102-113.
10. KolobovaN.E.,ValuevaZ.P., AnisimovK.N., SuleimanovG.Z.*IzvestiyaAN USSR*, **1978**, 12, 28728-2838.
11. Korchagin V.A., FilonenkoYu.Ya.*Ecological aspects of motor transport: Textbook, Manual*,Moscow: MNEPU Publishing House, **1997**.
12. KulchitskyA.R.*Toxicity of automotive and tractor engines,* Moscow: Publishing house LLC "Academic Project", **2004**.
13. KuznetsovA.V.*Fuel and lubricants*, Moscow: Kolos, **2007**.
14. Li B., Liu N., Zhao R., Zhang H., Egolfopoulos F.N. *Proceedings of the Combustion Institute,* **2013**, 34(1), 727-733
15. Meißner J., Pasel J., Peters R., Samsun R.C., Tschauder A., Stolten D. *Chemical Engineering Journal*, **2016**, 305,107-116.
16. MitusovaT.N., PolinaE.V., KalininM.V.*Modern diesel fuels and additives to them*, Moscow: Publishing house "Engineering", OOO "TUMA GROUP", **2002**.
17. Napolitano P., Guido C., Beatrice C., Pellegrini L. *Fuel,***2018**, 222, 718-732.
18. Safarov J., Ashurov U., Ahmadov B., Abdullayev E., Shahverdiyev A., Hassel E. *Fuel*, **2018**, 216, 870-889.
19. SuleimanovG.Z., MamedovE.Sh., RustamovaA.I., RustamovM.M. *Chemistry and Chemical Technology*,**2007**, 5(50), 82-87.
20. Tartakovsky L., Sheintuch M. *Progress in Energy and Combustion Science,* **2018**, 67, 88-114.
21. ZakharovaE.L.,EmelyanovR.E., DeynskoP.R. *Journal Chemistry and Chemical Technology*,**1995**, 2, 298-305.
22. ZakharovaE.L., EmelyanovR.E.,DainskoP.D.*Chemistry and Technology of Fuels and Oils*,**2004b**, 1, 36-43.
23. ZakharovaE.L.,EmelyanovR.E.,DeynskoP.R.*J ournalChemistry and Technology of Fuels and Oils*, **2004a**, 1, 36-41.
24. Zhao L, Cheng Z, Ye L, Zhang F, Zhang L, Qi F. *Proc Combust Inst*, **2015**, 35 (2), 1745–52.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil



a) b)

Figure 1.The thermogravimetric diagrams of the complexes: a) $(OC)_3MnC_5H_4C(CH_3)_2OH$

b) $(OC)_3MnC_5H_4–C(OH)–C_6H_4–CH_2$

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

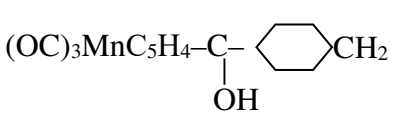
Table1.*Conditions of producing cymantrenylcyclopentyl-(hexyl-) carbinols by oxyalkylation of cymantrene with cyclopentanone or cyclohexanone using H_2SO_4 - DEANaf of catalytic system*

Phase	Phase creating components and their volume ratio	Reaction temperature,°C	Reacting components and their mole ratio	Products of oxyalkylation
Organic	Petroleum ether 20	-10÷ -20	Cymantrene, cyclopentanone (cyclohexanone) 1:1	Cymantrenyl-cyclopentyl-(cyclohexyl-) carbinols
Inorganic	Water 1	-10÷ -20	H_2SO_4: (DƏANaf) 1:1	Catalyst carrier

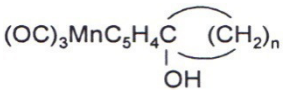
Table 2.*Smoke reducing effect in the series of cymantrene and its cyclocarbinol (I, II) and bariumcarbinol derivatives (V, VI) in diesel fuel (GOST 17.2.2.01-84) at an average load of engine*

№	Name of complex	Influence of cymantrene and its derivatives on smoke reducing effect, %			
		0.02 g/l	0.025 g/l	0.035 g/l	0.05 g/l
1	Cymantrene	18	33	47	48
2	Cymantrenylcyclopentylcarbinol	29	48	63	65
3	Cymantrenylcyclohexylcarbinol	31	52	67	68
4	cymantrenylcyclopentylcarbonylatesodium	69	84	92	93
5	cymantrenylcyclohexylcarbonilatesodium	71	88	94	95

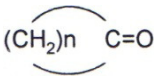
Table 3.*Some physico-chemical properties of the complexes obtained*

Compounds	Results of elemental analysis					
	Found, %			Calculated, %		
	C	H	Mn	C	H	Mn
$(OC)_3MnC_5H_4C(CH_3)_2OH$	50.30	4.25	20.86	50.38	4.19	20.99
	55.70	4.88	18.30	55.62	4.96	18.21

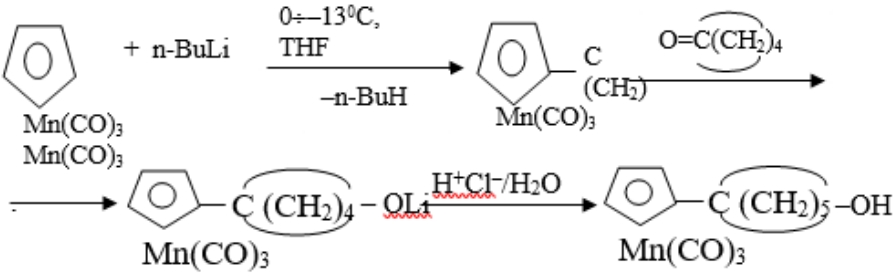
© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil



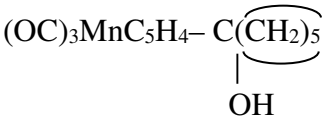
(1)



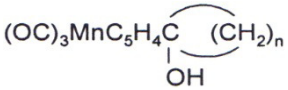
(2)



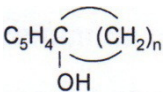
(3)



(4)



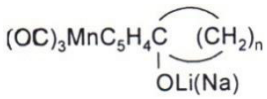
(5)



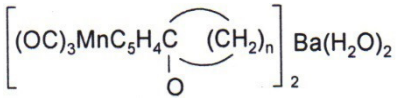
(6)



(7)



(8)



(9)

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO DO TIMOL COM A ANFOTERICINA B CONTRA *Rhizopus orizae*

STUDY OF THE ASSOCIATION OF TIMOL WITH ANFOTERICIN B AGAINST *Rhizopus orizae*

ANDRADE JÚNIOR, Francisco Patricio de[1*]; TEIXEIRA, Anna Paula de Castro[2]; OLIVEIRA, Wylly Araújo de[3]; LIMA, Edeltrudes de Oliveira[4]; LIMA, Igara Oliveira[5]

[1] Graduando em Farmácia, Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, Unidade Acadêmica de Saúde, Olho D'água da Bica S/N, cep 58175-000, Cuité – PB, Brasil
(fone: +55 84 98135-7242)

[2]Mestranda em Ciências Naturais e Biotecnologia, Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, Olho D'água da Bica S/N, cep 58175-000, Cuité – PB, Brasil.
(fone: +55 84 9622-8013)

[3] Prof. Dr. do Programa de Pós-Gradução em Ciências Naturais e Biotecnologia e da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, Unidade Acadêmica de Saúde, Olho D'água da Bica S/N, cep 58175-000, Cuité – PB, Brasil.
(fone: +55 083 3372-1982)

[4] Profª Drª do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintético Bioativos, Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Ciências Farmacêutica, Castelo Branco, cep 58051-900, João Pessoa – PB, Brasil.
(fone: +55 083 3216-7026)

[5] Profª. Drª. do Programa de Pós-Gradução em Ciências Naturais e Biotecnologia e da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, Unidade Acadêmica de Saúde, Olho D'água da Bica S/N, cep 58175-000, Cuité – PB, Brasil.
(fone: +55 083 3372-1982)

** Autor correspondente*
e-mail: juniorfarmacia.ufcg@outlook.com

Received 13 June 2018; received in revised form 09 August 2018; accepted 09 August 2018

RESUMO

A mucormicose é uma infecção incomum que pode afetar vários sistemas como o respiratório, cutâneo, gastrointestinal, sistema nervoso central e órgãos profundos e apresenta altas taxas de mortalidade que podem variar de 70% a 100%. Os fúngos do gênero *Rhizopus* são os responsáveis pelo maior número de casos dessa doença, tendo as espécies *Rhizopus oryzae* e *Rhizopus microsporus* como principais agentes etiológicos. O objetivo deste trabalho foi investigar a atividade antifúngica do fitoconstituinte timol contra cepas de *Rhizopus*, assim como avaliar a associação do monoterpeno timol à Anfotericina B. A avaliação da atividade antifúngica se deu através da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Fungicida Mínima (CFM), enquanto que a associação foi realizada pela metodologia de *Checkerboard*. A CIM do timol contra as cepas de *Rhizopus* foi de 256 µg/mL, enquanto que a CFM variou entre 512 µg/mL a 1024 µg/mL. O Índice da Concentração Inibitória Fracionária (ICIF) da associação do timol com a anfotericina B foi 2,5 indicando que a associação entre o fitoconstituinte e o fármaco foi indiferente. Diante dos resultados obtidos, o timol apresentou atividade antifúngica frente às cepas testadas e sua ação foi indiferente, quando associado à anfotericina B, nas condições avaliadas.

Palavras-chave: *Associação, Anfotericina B, Timol, Fungos, Rhizopus.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ABSTRACT

Mucormycosis is an uncommon infection that can affect several systems such as respiratory, cutaneous, gastrointestinal, central nervous system and deep organs and has high mortality rates which can vary from 70% to 100%. Fungi of the *Rhizopus* genus are responsible for the largest number of cases of this disease, with the species *Rhizopus oryzae* and *Rhizopus microsporus* as the main etiological agents.The aim of this study was to investigate the antifungal activity of thymol phytoconstituent against *Rhizopus* strains, as well as to evaluate the association of thymol monoterpene to Amphotericin B. The evaluation of the antifungal activity occurred through the determination of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Fungicidal Concentration (CFM), while the association was performed by the Checkerboard methodology. The thymol MIC against the *Rhizopus* strains was 256 µg/mL, while the CFM ranged from 512 µg/mL to 1024 µg/mL. The Fractional Inhibitory Concentration Index (FICI) of thymol association with amphotericin B was 2.5 indicating that the association between the drug and phytoconstituent was indifferent. In front of the results obtained, thymol presented antifungal activity against the strains tested; and its action was indifferent when associated with amphotericin B in the conditions evaluated.

Keywords: *Association, Amphotericin B, Thymol, Fungi, Rhizopus.*

INTRODUÇÃO

A mucormicose é uma infecção fúngica incomum que pode afetar diversos sistemas, incluindo o respiratório, cutâneo, gastrointestinal, sistema nervoso central e órgãos profundos (Al-Otaibi *et al*., 2016).

Esta doença tem emergido como uma infecção potencialmente fatal de progressão rápida e com altas taxas de mortalidade (Petrikkos; Skiada; Drogari-Apiranthitou, 2014).

Fungos da família Mucorales são os principais agentes responsáveis pelo desenvolvendo dessa doença, sendo o gênero *Rhizopus* (figura 1) o responsável pelo maior número de casos, tendo as espécies *Rhizopus oryzae* e *Rhizopus microsporus* como principais agentes etiológicos (Harrasser *et al*., 2014).

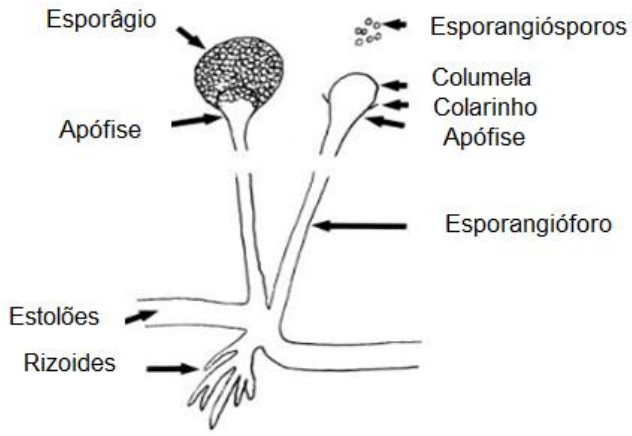


Figura 1. *Representação micromorfológica de Rhizopus spp.*
Fonte: Adaptado de RIBES; VANOVER-SAMS; BAKER, 2000.

Os neutrófilos são a principal defesa contra estes fungos nos tecidos do hospedeiro. Assim, os indivíduos imunocomprometidos, são susceptíveis a proliferação fúngica e consequente desenvolvimento da mucormicose que pode apresentar-se nas formas clínicas: rino-cerebral, pulmonar, gastrointestinal, sistema nervoso central, subcutânea e de forma disseminada (Costa *et al*., 2011; Pak *et al*., 2008; Souza *et al*., 2014)

Independentemente do órgão atingido por esta micose, a Anfotericina B (figura 2) é o fármaco de escolha, já que outros antifúngicos não se mostram eficazes contra estes microrganismos (Harvey; Champe; Fisher, 2008).

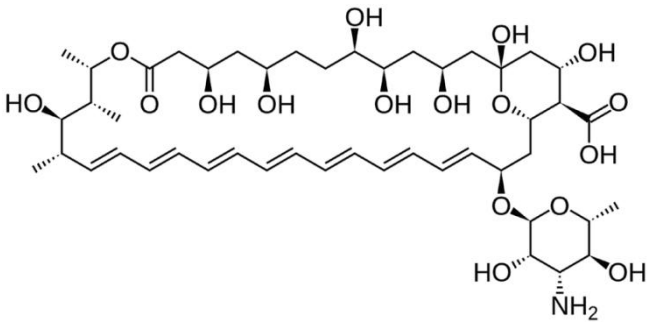


Figura 2. *Estrutura química do fármaco Anfotericina B.*
Fonte: FALCI; PASQUALOTTO, 2015.

A Anfotericina B se caracteriza por ser um antibiótico poliênico com atividade contra amplo espectro de fungos. Entretanto, possui vários efeitos adversos que contribuem para a baixa

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

adesão ao tratamento como calafrios, febre, náuseas, vômitos, cefaleia, hipotensão, tarquicardia, dispneia, além da nefrotoxicidade, hepatotoxicidade e toxicidade hematalógica (Falci e Pasqualotto, 2015).

Levando em consideração a grande quantidade de efeitos adversos observados acerca de Anfotericina B para o tratamento de mucormicoses e a necessidade de outras alternativas terapêuticas eficazes, a busca por novas por novas formas e produtos para o combate a este tipo de infecção é essencial.

Dentre as possíveis novas alternativas têm-se o monoterpeno timol (2-isopropil-5-metilfenol) (figura 3), que apresenta atividade antimicrobiana comprovada contra diversos microrganismos, sendo o principal monoterpeno fenol isolado em óleos essenciais de plantas da família Lamiaceae, incluindo os gêneros *Thymus*, *Ocimum*, *Origanum* e *Monarda* (Marchese *et al*., 2016).

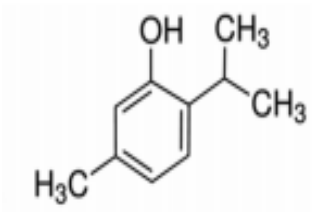


Figura 3. *Estrutura química do monoterpeno Timol.*
Fonte: SOUZA; FERRAZ-FREITAS; OLIVEIRA, 2015.

Os fármacos podem ser utilizados de forma isolada ou associada, sendo a associação entre antimicrobianos vantajosa por permitir uma maior eficácia no tratamento farmacológico, além de proporcionar a diminuição dos efeitos adversos e consequente melhora na adesão ao tratamento.

Deste modo, o presente estudo teve como objetivo investigar a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração fungicida mínima (CFM) do monoterpeno timol contra a cepas de *Rhizopus* spp. e associar esse fitoconstituinte à anfotericina B para avaliar se existe sinergismo nessa combinação.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Inóculo

Foram utilizadas nos experimentos duas cepas de *Rhizopus oryzae* (URL-4857 e LM-64) e uma cepa de *Rhizopus microsporus* (LM-5926). Os fungos foram cultivados em meio de cultura ASD, onde os tubos foram incubados por um período de 5 a 7 dias a 35ºC. Após o período de incubação, os esporangiósporos foram suspensos pela adição de NaCl 0,85% estéril ao tubo contendo o meio de cultura juntamente com o fungo e em seguida foi agitado suavemente por 30 segundos e os esporangiósporos foram contados utilizando o hemocitômetro. A suspensão foi ajustada utilizando solução salina estéril para conter 5 x 10^4 esporangiósporos/mL (CLSI, 2010).

2.2. Agentes antifúngicos

O timol e a Anfotericina B foram adquiridos da Sigma-Aldrich. As soluções foram preparadas antes da realização dos testes, dissolvendo-as em Tween® 80 0,5%. Os veículos onde as drogas foram solubilizadas foram testados frente às cepas de *Rhizopus* no intuito de avaliar se o tween 80 poderia interferir na ação das drogas testadas ou possuir atividade biológica na presença das cepas utilizadas.

2.3. Concentração inibitória mínima (CIM) e Concentração fungicida mínima (CFM)

A concentração inibitória mínima do timol e da anfotericina B, foi determinada a partir da técnica de microdiluição. Em cada cavidade da placa de microdiluição foi adicionado 100 µL de caldo Sabouroud e posteriormente 100 µL da solução com o timol ou com a anfotericina B a serem testadas, obtendo-se por meio da diluição seriada 1:2 concentrações de 2.048 µg/mL até 0,5 µg/mL, por fim foram adicionados 10 µL do inóculo. As placas foram incubadas a 28ºC durante 48 horas e a CIM foi determinada como a menor concentração capaz de inibir o crescimento do microrganismo (CLSI, 2010; Mota, 2013).

Após a determinação da CIM foram retirados 10 µL de cada cavidade onde não houve crescimento fúngico e semeados em placas contendo Agar Saboround Dextrose (ASD), por fim as placas foram incubadas a 28ºC durante 24 horas e em seguida o número de colônias foi determinada (Klepser *et al*., 1998).

2.4. Estudo de associação através do método *Checkerboard*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

A partir da CIM, foram preparadas soluções do timol e da anfotericina B em diferentes concentrações (CIM/8; CIM/4; CIM/2; CIM; 2xCIM; 4xCIM e 8xCIM). Em cada cavidade da placa de microdiluição foi adicionado 100 µL de caldo Sabouroud. Em seguida, adicionou-se 50 µL das diferentes concentrações de anfotericina B verticalmente nas cavidades da placa de microdiluição, enquanto que para o monoterpeno timol houve a adição de 50 µL de suas diferentes concentrações horizontalmente. Em seguida foi adicionado 20 µL do inóculo contendo a cepa *R. orizae* LM-64. Todas as concentrações do timol foram combinadas e testadas com todas as concentrações da anfotericina B (D'Arrigo *et al*., 2010). O ensaio foi realizado em triplicata.

Para avaliar a atividade dos dois fármacos combinados, foi determinada o Índice da Concentração Inibitória Fracionária (IFIC) que é o somatório da Concentração Inibitória Fracionada de A (CIF de A) com a Concentração Inibitória Fracionada de B. O CIF de A é a CIM de A combinada/ CIM de A sozinha e o CIF de B é a CIM de B combinada/ CIM de B sozinha. Onde A é o timol e B é a anfotericina B. O sinergismo entre os fármacos ocorre quando a FIC é ≤ 0.5; a associação é considerada indiferente quando FIC > 0.5 ou ≤ 4.0, enquanto que o antagonismo é constatado caso FIC > 4.0 (Tobudic *et al*., 2010; Ruíz-Cendoya *et al*., 2008; White *et al*., 1996).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A CIM do timol contra todas as cepas de *Rhizopus* testadas foi 256 µg/mL, enquanto a CIM da anfotericina B variou entre 4 e 8 µg/mL (Tabela 1).

Pode-se observar que o fitoconstituinte timol apresentou atividade antifúngica. Considera-se que quando um produto apresenta, CIM entre 50-500 µg/mL indica que a substância testada possui atividade ótima, CIM com valores entre 600-1500 µg/mL indica atividade moderada e valores de CIM superiores a 1500 µg/mL são consideradas de atividade fraca (Sartoratto *et al*., 2004).

Corroborando com os resultados obtidos, Mota *et al*., (2012) observaram valores de CIM semelhantes tanto para a anfotericina B como para o monoterpeno timol em diferentes cepas de *Rhizopus*, que variou de 128 µg/mL à 256 µg/mL para o timol e 2 µg/mL à 4 µg/mL para a anfotercina B.

A atividade antifúngica do timol não se restringe somente a cepas de *Rhizopus*, uma vez que, pesquisa indica que há atividade antifúngica deste fitoconstituinte frente a cepas de *Candida* e *Microsporum canis* com CIM que variaram entre 39 µg/mL à 150 µg/mL e entre 8 µg/mL à 9,7 µg/mL, respectivamente (Fontenelle *et al*., 2011). Em outro estudo que avaliou a atividade anti-*Candida* deste monoterpeno, observou-se que a CIM frente diversas cepas variaram entre 64 à 128 µg/mL (Guo *et al*., 2009). A CFM do timol contra *Rhizopus* spp. está representada na tabela 2.

Os valores de CFM variaram entre 512 µg/mL a 1024 µg/mL, corroborando com estes resultados, Mota *et al*., (2012) observaram que a CFM do timol frente a cepas de *Rhizopus* variou entre 128 µg/mL a 1024 µg/mL (Mota *et al*., 2012). Castro *et al*., (2015), por sua vez, verificaram que a CFM deste fitoconstituinte frente a cepas do gênero *Candida* variaram entre 39 µg/mL a 78 µg/mL, enquanto Fontenelle *et al*., (2011) observaram que os valores de CFM variaram entre 78 µg/mL a 310 µg/mL frente a cepas de *Candida* e entre 4,8 µg/mL à 9,7 µg/mL para cepas de *M. canis* (Fontenelle *et al*., 2011).

A determinação de CIM e CFM *in vitro* se faz necessário, tendo em vista que, em pacientes (ou indivíduos) imunecompetentes e infecções não complicadas, os níveis de CIM serão geralmente suficientes para guiar a terapia antifúngica. Entretanto, no caso de indivíduos com sistema imune deficiente ou suprimido, o valor da CFM mostra-se mais útil para guiar a terapia da doença infecciosa (Dantas, 2013).

A associação entre antifúngicos pode diminuir a seleção de cepas resistentes e ao diminuir a concentração de cada fármaco isolado minimiza os efeitos colaterais e aumenta a efetividade. Por isso, foi realizado um estudo da associação entre o fitoconstituite timol e o fármaco anfotericina B, por meio do método de *checkerboard*.

O método de *checkerboard* avalia a evolução da CIM individual de cada fármaco na presença de um segundo fármaco, sendo uma das técnicas de associação mais utilizadas entre os pesquisadores (Santos, 2010). O Índice da Concentração Inibitória Fracionada da associação entre o timol e a anfotericina B foi igual a 2,5; por isso, a combinação entre eles foi considerada indiferente (Tabela 3).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

A indiferença farmacológica se dá quando o mecanismo de ação de um fármaco não interfere no mecanismo de ação do outro, ou seja, os medicamentos não interagem sob nenhum aspecto de sua ação farmacodinâmica ou farmacocinética (Oliveira, 1986).

Estudos que utilizam o timol associado a fármacos utilizados na terapêutica antifúngica, demonstraram que a associação deste monoterpeno com os fármacos nistatina e fluconozol apresentou-se sinérgica frente a cepas de *Candida albicans* (Castro *et al*., 2015; Pemmarujo *et al*., 2013). Enquanto que a associação entre timol e anfoterina B demonstrou efeitos sinérgicos frente cepas de *C*. *albicans* (Guo *et al*., 2009).

Deste modo, é necessário salientar que este é o primeiro estudo que relata o efeito indiferente entre a combinação do timol e a anfotericina B para uma cepa de *R. orizae*. Portanto, os achados aqui descritos podem nortear outros estudos que abordem a mesma temática como foco centralizador.

CONCLUSÕES

O fitoconstituinte timol apresentou atividade antifúngica frente a cepas do gênero *Rhizopus* podendo representar uma nova possibilidade para a terapêutica antifúngica, e ao associá-lo a anfotericina B observou-se que esta combinação apresentou-se indiferente, nas condições avaliadas.

REFERÊNCIAS

1. Al-Otaibi, A. M., Al-Shahrani, A. A., Al-Idrissi, E. M., Al-Abdely, H. M. *Saudi Med J*, **2016**, *37*, 569.
2. Petrikkos, G., Skiada, A., Drogari-Apiranthitou, M. *Clin Microbiol Infect,* **2014**, *20*, 73.
3. Harrasser, N., Banke, I. J., Hauschild, M., Lenze, U., Prodinger, P. M., Toepfer, A., Peschel, C., Eisenhart-Rothe, R., Ringshausen, I., Verbeek, M. *BMC Infect Dis*., **2014**, *14*, 6.
4. Costa, M. A., Reis, R. F., Seca, M., Queirós, J., Pinto, M. C., Araújo, M. *Oftalmologia*, **2011**, *55*, 359.
5. Pak, J., Tucci, V.T., Vicent, A.L., Sandin, R.L., Greene, J.N. *J Emerg Trauma Shock*, **2008**, *1*, 113.
6. Souza, J. M., Sproesser Júnior, A. J., Felippu Neto, A., Fuks, F. B., Oliveira, C. A. C. *Einstein*, **2014**, *12*, 350.
7. Harvey, R. A., Champe, P. C., Fisher, B. C. Microbiologia Ilustrada. Porto Alegre: Artmed, **2008**.
8. Falci, D. R., Pasqualotto, A. C. *Clin Biomed Res*., **2015**, *35*, 82.
9. Marchese, A., Orhan, I. E., Daglia, M., Barbieri, R., Lorenzo, A. D., Nabavi, S. F., Gortzi, O., Izadi, M., Nabavi, S. M. *Food Chem*., **2016**.
10. CLSI. Manual clinical and laboratory standards institute, **2002**, *22*, 50.
11. Mota, K. S. L. Atividade antifúngica do óleo essencial de Thymus vulgaris L. e Fitoconstituintes Contra Rhizopus oryzae e Rhizopus microsporus: Interação com Ergosterol [tese]. João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba, **2013**.
12. Klepser, M. E., Ernst, E. J., Ernst, M. E., Messer, S. A., Pfaller, M. A. *Antimicrob Agents Chemother*., **1998**, *42*, 1391.
13. D'Arrigo, M., Ginestra, G., Mandalari, G., Furneri, P. M., Bisignano, G. Phytomedicine, **2010**, *17*, 322.
14. Tobudic, S., Kratzer, C., Lassnigg, A., Graninger, W., Presterl, E. J Antimicrob Chemother, **2010**, *65*, 274.
15. Ruíz-Cendoya, M., Rodriguez, M. M., Mariné, M., Pastor, F. J., Guarro, J. *Int J Antimicrob Agents*., **2008**, *32*, 420.
16. White, R. L., Burgess, D. S., Manduru, M., Bosso, J. A. *Antimicrob Agents Chemother*, **1996**, *40*, 1918.
17. Sartoratto, A., Machado, A. L. M., Delarmelina, C., Figueira, G. M., Duarte, M. C. T., Rehder, V. L. G. *Braz J Microbiol*, **2004**, *35*, 280.
18. Mota, K. S. L., Pereira, F. O., Oliveira, W. A., Lima, I. O., Lima, E. O. *Molecules*, **2012**, *17*, 14433.
19. Fontenelle, R. O., Morais, S. M., Brito, E. H., Brilhante, R. S., Cordeiro, R. A., Lima, Y. C., Brasil, N. V., Monteiro, A. J., Sidrim, J. J., Rocha, M. F. *Molecules*, **2011**, *16*, 6431.
20. Guo, N., Liu, J., Wu, X., Bi, X., Meng, R., Wang, X., Xiang, H., Deng, X., Yu, L. *J Med Microbiol*, **2009**, *58*, 1079.
21. Castro, R. D., Souza, T. M., Bezerra, L. M., Ferreira, G. L., Costa, E. M., Cavalcanti, A. L. *BMC Complement Altern Med*., **2015**, *15*, 7.
22. Dantas, T. B. Atividade antifúngica in vitro de timol sobre cepas do gênero

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Penicillium [dissertação]. João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba, **2013**.
23. Santos, R. D. T. Perfil de susceptibilidade e resultados da associação de antifúngicos: um novo método [dissertação]. Lisboa: Universidade de Lisboa, **2010**.
24. Oliveira, D. S. *Caderno de Farmácia*, **1986**, *2*, 110.
25. Pemmaruju, S. C., Pruthi, P. A., Prasad, R., Pruthi, V. *Indian J Exp Biol*., **2013**, *51*, 1037.
26. Souza, C. R. F., Ferraz-Freitas, P., Oliveira, W. P. C. *Química Nova*, **2016**, *39*, 986.
27. Ribes, J. A., Vanover-Sams, C. L., Baker, D. J. *Clin Microbiol Rev*., **2000**, *13*, 301.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

***Tabela 1**. CIM do timol e Anfotericina B contra cepas de Rhizopus spp.*

Cepa	Controle positivo	Anfotericina B (µg/mL)	Timol (µg/mL)
Rhizopus orizae LM – 64	+	8	256
Rhizopus microsporus LM – 5926	+	4	256
Rhizopus orizae URL – 4857	+	8	256

+Crescimento fúngico.

***Tabela 2**. CFM do timol frente a cepas de Rhizopus.*

Cepa	Controle positivo	Timol (µg/mL)
Rhizopus orizae LM – 64	+	1024
Rhizopus *microsporus* LM – 5926	+	512
Rhizopus orizae URL – 4857	+	512

+Crescimento fúngico.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

***Tabela 3**. Determinação da FIC da associação entre o fitoconstituinte timol e a Anfotericina B frente à cepa de Rhizopus orizae LM-64.*

Cepa	Combinação A + B	CIF A	CIF B	ICIF	Interpretação
Rhizopus orizae LM – 64	Timol + Anfotericina B	0,5	2.0	2.5	Indiferente

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ATIVIDADES EXPERIMENTAIS E ENSINO POR INVESTIGAÇÃO: PROPOSTA DE FORMAÇÃO CONTINUADA PARA PROFESSORES DE QUÍMICA

EXPERIMENTAL ACTIVITIES AND TEACHING BY INVESTIGATION: PROPOSED CONTINUED FORMATION OF CHEMISTY TEACHERS

LIMA, Alexsandra Rodrigues[1]; SILVA, Flávia Cristiane Vieira da[1]; SIMÕES NETO, José Euzebio[2]*

[1] Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Avenida Gregório Ferraz Nogueira, s/n, José Tomé de Souza Ramos. CEP: 56909-535 – Serra Talhada, Pernambuco.

[2] Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos. CEP: 52171-900 – Recife, Pernambuco.

** Autor correspondente*
e-mail: euzebiosimoes@gmail.com

Received 01 April 2018; received in revised form 09 August 2018; accepted 10 August 2018

RESUMO

A utilização de experimentos é uma importante estratégia didática para o ensino de química, para motivação e aprendizagem de conteúdos científicos, sobretudo quando pensada em consonância com o ensino por investigação, em busca de fomentar o questionamento, planejamento e explicações a partir de evidências, ações essenciais para compreensão dos conteúdos da química. O presente trabalho teve por objetivo avaliar as potencialidades de uma oficina de formação continuada para professores de química, bem como analisar as impressões desses professores sobre o trabalho experimental por meio do Ensino por Investigação. Para isso, realizou-se a referida oficina centrada na abordagem da experimentação em uma perspectiva de Ensino por Investigação com seis professores de Química do Ensino Médio que lecionam na cidade de Serra Talhada, Pernambuco. A aplicação da oficina ocorreu em dois momentos, totalizando oito horas. Para compor a proposta de formação continuada foram utilizadas as seguintes atividades: histórias em quadrinhos, vídeos, aulas teóricas, apresentação de experimentos, entre outros recursos. Os dados foram coletados a partir da utilização de câmera para gravação em áudio vídeo, além do material produzido pelos professores participantes e foram analisados usando descrição/reflexão das ações e análise textual discursiva, respectivamente. Foi possível perceber a evolução das concepções dos professores sobre a utilização da experimentação no ensino, em um movimento de convergência para ideias de trabalho com atividades experimentais na perspectiva de ensino por investigação.

Palavras-chave: *Formação Docente, Ensino por Pesquisa, Experimentação.*

ABSTRACT

The use of experiments is an important didactic strategy for the chemistry teaching, for motivation and learning of scientific contents, especially when designed in accordance with research teaching, in order to encourage questioning, planning and explanations based on evidence, actions essential for understanding the contents of chemistry. The present work had the objective of evaluating the potential of a continued formation of for chemistry teacher's workshop, as well as analyzing the impressions of these teachers on experimental work through teaching by investigation. For this, it was conducted the referred workshop focused on the approach of experimentation in a perspective of teaching by investigation with six chemistry teachers of the High School in the city of Serra Talhada, Pernambuco. The application of the workshop occurred in two moments, totaling eight hours. To compose the proposal of continued formation the following activities were used: comics, videos, theoretical classes, presentation of experiments, among other resources. The data were collected from the use of a camera for recording in audio and video, in addition to the material produced by the participating teachers and were analyzed using description/reflection of the actions and discursive textual analysis, respectively. It was possible to perceive the evolution of teachers' conceptions about the use of experimentation in teaching, in a

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

movement of convergence for ideas of work with experimental activities in the perspective of teaching by research.

Keywords: Docent Formation, Teaching by Research, Experimentation.

INTRODUÇÃO

Desde o século XVIII o papel da experimentação no ensino de Ciências é reconhecido por cientistas filósofos e pensadores em todo o mundo, e, no contexto brasileiro, desde meado do século XIX. De acordo com Silva, Machado e Tunes (2010), a inclusão da experimentação no ensino de ciências se deu sob um enfoque utilitarista, associando o conhecimento teórico e as atividades práticas. Nas primeiras décadas do século XX os órgãos oficiais brasileiros advertiram que as instituições acolhessem laboratórios equipados para as aulas de Ciências, e somente a partir da década de 1950 a experimentação foi consolidada como estratégia didática e considerada significativa por professores e pela gestão nas escolas.

De fato, a utilização de experimentos se configura como uma das mais importantes estratégias para o ensino das ciências, que pode ser utilizada pelos professores não só para despertar o interesse dos alunos, mas também para ajudá-los na construção do conhecimento. A ausência de laboratórios nas escolas não deve ser um impedimento para realização de atividades experimentais, visto que vários experimentos podem ser realizados com materiais simples e que são encontrados no cotidiano, denominados materiais de baixo custo (Silva, Machado e Tunes, 2010; Rosito, 2008).

O uso da experimentação no Ensino Médio, sobretudo na disciplina Química, muitas vezes superficial ou existente de forma equivocada, simplificados ou abordados de forma inadequada pelos professores (Silva, Machado e Tunes, 2010). Essa ausência ou utilização inadequada pode ter duas origens: falta de estrutura física, quando as escolas não oferecem as condições necessárias para realização de experimentos, como laboratórios e problemas na formação dos professores.

Sobre esse segundo fator, Rosito (2008) aponta que, em um curso de graduação, impossível que todas as necessidades formativas sejam preenchidas, sendo importante que os professores estejam em constante processo de formação, participando de oficinas, minicursos, eventos formativos e grupos de pesquisa e estudo, entre outros. Só assim os professores de ciências podem, efetivamente, buscar a superação das deficiências em sua formação, que representa uma séria limitação para utilização de experimentos em suas aulas, tanto com relação a formação pedagógica e domínio dos conteúdos específicos.

Segundo Azevedo (2012), uma forma de conduzir, de maneira inovadora e satisfatória, o aluno na sua trajetória de aprendizagem é a utilização de atividades investigativas. Ao colocar os estudantes como sujeitos ativos de um processo investigativo, ele deixa de assumir uma postura passiva, assumindo compromisso de agir sobre seu objeto de estudo. Assim, justifica-se a opção em considerar, para o trabalho com experimentação na escola, o Ensino por Investigação.

Para mais além de uma mudança conceitual, modelo que durante muito tempo foi hegemônico e até considerado como a forma correta de aprender ciência (Posner et al., 1982; Mortimer, 1995; Mortimer, 1996), os modelos de ensino das ciências por investigação adotam a ideia de que para conseguir essas mudanças profundas na visão de mundo dos estudantes, o trabalho não deve ser concentrado apenas em conhecimentos conceituais, mas também procedimentais e atitudinais. Para isso é preciso que eles estejam inseridos em um contexto de atividade semelhante ao que vive um cientista, não para assumir o papel de pequeno cientista, como no ensino por descoberta, mas sob a atenta orientação do professor. O ensino por investigação não objetiva formar verdadeiros cientistas e muito menos provocar mudanças apenas conceituais nos alunos, o objetivo é estimular e instigar o pensamento de maneira não superficial. (Campos e Nigro, 1999; Pozo e Gómez Crespo, 2009).

Diante do exposto, acredita-se que oficinas de formação continuada de professores são importantes e necessárias, principalmente para docentes que atuam no Ensino Médio, pois a partir das reflexões sobre o tema, conteúdo ou estratégias didáticas, eles podem se sentir mais seguros e buscar ir além da aula expositiva

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

tradicional, ao utilizar estratégias diferenciadas, como a experimentação, que facilitem a construção do conhecimento pelos estudantes. Diante do exposto o objetivo desse trabalho foi avaliar potencialidades e eficácia de uma oficina de formação continuada, bem como analisar as impressões (ou concepções) dos professores sobre o trabalho experimental por meio do Ensino por Investigação.

ATIVIDADES EXPERIMENTAIS E ENSINO POR INVESTIGAÇÃO

Não é raro ouvir dos alunos que química é uma disciplina chata, tediosa e difícil de aprender (Cardoso e Colinvaux, 2000; Pessoa e Alves, 2011). A química é uma ciência deveras abstrata e os alunos têm que imaginar entidades e processos que existem em níveis microscópicos, ou seja, devem ir além daquilo que é apresentado para eles pelos seus sentidos, sendo necessário imaginar, modelar, ir além do entendimento real. Dessa maneira a maioria dos alunos buscam artifícios cognitivos mais econômicos (Meirieu, 1998), como por exemplo, memorizar tudo que lhes é informado.

Segundo Ferreira e Justi (2008) a aprendizagem dos conceitos químicos pelos estudantes é dificultada pelo fato de esta ser uma ciência abstrata. Torna-se difícil para o aluno pensar sobre a ocorrência de fenômenos microscópicos, principalmente levando em consideração apenas o ensino tradicional, que apresenta o conhecimento cientifico como um conteúdo finalizado, o que estimula os alunos a memorizarem fatos, dados e procedimentos, não levando em conta os processos humanos envolvidos na construção das ciências.

Devido ao caráter experimental atribuído a química no seu desenvolvimento, parece importante o trabalho com atividades práticas laboratoriais. Nas palavras de Galiazzi e Gonçalves (2004), a experimentação é uma ferramenta importante para o ensino e aprendizagem, que desperta forte interesse entre alunos de diversos níveis de escolarização. Porém, não basta dispor de laboratório completo para se obter resultados significativos no ensino, é preciso que as atividades sejam bem elaboradas, pois se assim não forem, acabam esvaziadas de significado.

Segundo Silva e Zanon (2000) a crença de que a experimentação mostra empiricamente como as coisas acontecem é bastante comum no meio educacional, e isso pode causar nos alunos a ideia de que as teorias foram elaboradas por mentes brilhantes, baseada na intuição e independente dos fenômenos que visam a entender e explicar, sendo o fenômeno apenas a demonstração de uma verdade já estabelecida e a teoria portadora de um status de maior relevância. Essa visão de ciência, considerada equivocada por Gil-Pérez e colaboradores (2001), deve ser evitada.

A abordagem experimental em um viés investigativo se destaca no sentido de evitar uma visão da ciência pronta e acabada, isenta de erros. Pozo e Goméz Crespo (2009) ressaltam que a utilização da experimentação em uma perspectiva de ensino por investigação é uma proposta que vem ganhando bastante força, pois provoca nos alunos uma mudança de procedimentos e atitudes diante de determinados problemas, além da construção de conhecimentos conceituais. No entanto, para isso o professor precisa primeiramente alcançar as mesmas mudanças que precisa, posteriormente, provocar nos alunos.

Gil-Pérez (1993) afirma que aprender ciência por meio do Ensino por Investigação, provoca no aluno não só mudanças conceituais, mas também metodológicas e atitudinais. Porém a simples transformação das atividades clássicas não é suficiente. Não se pode arquitetar a aprendizagem como um resultado acumulado de uma série de atividades desconexas (introdução de conceitos, laboratórios, resolução de problemas de lápis e papel). Na realidade a construção do conhecimento demanda programas de pesquisa reais capazes de orientar o trabalho dos alunos.

Nesse ponto se faz necessário esclarecer que a proposta de Ensino por Investigação possui diferenças significativas do Ensino por Descoberta. Uma das maiores diferenças é que no primeiro são propostas mudanças procedimentais, atitudinais e conceituais não somente nos alunos, mas sobretudo na ação dos professores. Ramírez, Gil Pérez e Martínez-Torregrosa (1994) apresentam uma sugestão para abordagem de uma atividade com caráter investigativo:

1. Motivar o aluno para o problema que será abordado.

2. Definir o problema de forma precisa.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

3. Emitir hipóteses.

4. Buscar estratégias para a emissão dos problemas.

5. Usar as estratégias selecionadas.

6. Analisar os resultados obtidos à luz das hipóteses emitidas.

7. Refletir sobre as respostas, se preciso deve-se redefinir o problema e idealizar novas situações que mereçam ser investigadas.

8. Elaborar um resultado final analisando não só os resultados obtidos, mas também o caminho utilizado para o processo de resolução.

Delizoicov, Angotti e Pernambuco (2011) apontam que, de acordo com algumas pesquisas atuais na área, os professores podem ser entendidos como profissionais essenciais para mudanças na estrutura e *status quo* da sociedade. Para isso, para que tenham sucesso nessa missão, devem ser colocados em posição central, longe das margens, quando se trata de decisões pedagógicas. Assim, os professores devem estar sempre preparados para o protagonismo, e essa preparação só existirá se existir previamente, investimento na formação inicial e continuada, bem como no desenvolvimento profissional.

Utilizar a perspectiva investigativa aliada à experimentação é um desafio para os educadores que visam uma aprendizagem mais efetiva dos seus alunos. Embora difícil, não é uma tarefa impossível, no entanto é necessário, além de dedicação, mudanças de atitudes. Na próxima seção é apresentada a metodologia pesquisa.

METODOLOGIA

O caráter dessa pesquisa é qualitativo, desenvolvida mediante contato direto com os participantes da investigação, gerando dados descritivos e interpretativos, a partir da análise de como as atividades experimentais podem ser trabalhadas em uma perspectiva de ensino por investigação, em ações proporcionadas por uma oficina de formação continuada realizada com seis professores de química da rede pública de ensino de Pernambuco, que atuam no Ensino Médio, na cidade de Serra Talhada, Pernambuco.

A organização foi pensada a partir de duas etapas de intervenção, mediante registro em áudio e vídeo e a transcrição de algumas falas, bem como na análise das ideias dos professores, a partir de atividades escritas.

Sujeitos da Pesquisa – Participantes da Oficina

Foram convidados e responderam positivamente ao convite seis professores de química. Siglas serão utilizadas para identificar os docentes: os professores da mesma escola receberam à mesma letra do alfabeto, então os professores A1 e A2, bem como B1 e B2 pertencem à mesma escola. Já C1 e D1 são de diferentes escolas. O quadro 1 mostra o perfil dos participantes.

Quadro 1. *Perfil dos participantes da oficina.*

Professor	Formação	Atuação	Experiência
A1	Matemática	Química e Matemática	12 anos
A2	Matemática	Química	27 anos
B1	História	Química, Física e Matemática	12 anos
B2	Química	Química e Física	2 anos
C1	Biologia	Química e Biologia	5 anos
D1	Matemática	Química	24 anos

Fonte: Elaborado pelos autores

Elaboração da oficina e do material de apoio

A oficina de formação continuada foi intitulada “Abordando o uso de Atividades Experimentais em uma perspectiva de Ensino por Investigação” e foi ministrada no laboratório de uma escola da rede estadual de ensino, na cidade de Serra Talhada. Foi planejada para oito horas, distribuídas em duas tardes de atividades, cada uma caracterizando um momento.

No primeiro momento, foi aplicado um questionário para levantamento das concepções prévias dos professores sobre experimentação e em seguida, apresentou-se um breve histórico da experimentação como estratégia didática no ensino de química, bem como os tipos de experimentação existentes. Também foi exibido um vídeo sobre experimentação na perspectiva do ensino por investigação, intitulado “Experimentação Investigativa”, produzido pelo GEPEC (USP) e disponível no portal YouTube.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Os professores formaram duplas, para trabalhar em conjunto até o final da oficina, utilizando o material de apoio elaborado para essa finalidade: uma apostila contendo quinze experimentos selecionados na literatura e previamente testados. Esta seleção valorizou experimentos possíveis de realização com matérias de baixo custo e de fácil acesso, nas três áreas em que a química é apresentada no Ensino Médio, a saber: química geral, química orgânica e físico-química.

No segundo momento foi abordado um pouco mais sobre o histórico da experimentação, agora centrado na perspectiva de ensino por investigação. Alguns materiais (reagentes e vidrarias) foram disponibilizados aos professores, para que eles pudessem usar a criatividade e tentar elaborar e/ou utilizar algum experimento existente na apostila, em proposta investigativa. Por fim, os experimentos escolhidos da apostila foram apresentados, associado a um problema na perspectiva do ensino por investigação, criado pela dupla de professores.

Durante os momentos da oficina, algumas atividades escritas foram realizadas com os professores: descrição da situação apresentada por um quadrinho; estudo do texto "A visita do inspetor" (Campos e Nigro, 1999); e respostas a perguntas finais, relativas a experimentação, ensino por investigação e a realização da oficina.

A figura 1 resume a sequência planejada para a oficina:

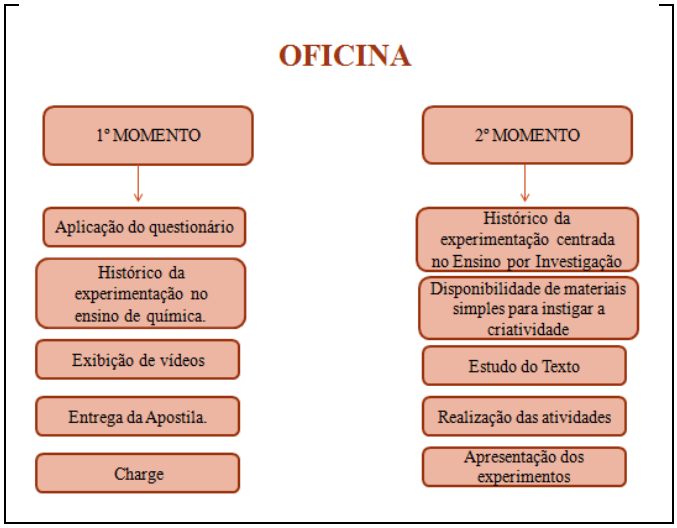


Figura 1. *Esquema da oficina de formação*
Fonte: Elaborada pelos autores

Análise dos dados coletados na oficina de formação continuada

Toda a aplicação da oficina foi gravada em áudio e vídeo com auxílio de uma câmera, totalizando cerca de 8 horas de material. Para análise dos dados, foram feitos recortes na gravação, relacionados aos objetivos da pesquisa. Os dados dos recortes foram transcritos em forma de episódios. Algumas interações observadas no vídeo estão descritas e algumas falas dos professores e da pesquisadora foram destacadas e comentadas.

- Análise dos experimentos apresentados pelos professores

A análise dos experimentos demonstrativos escolhidos pelos professores na apostila foi avaliada baseada nas argumentações teóricas encontradas na literatura sobre a experimentação por investigação. Foi observado se os professores apresentaram algum direcionamento para uma experimentação investigativa, já que os experimentos contidos na apostila eram todos originalmente demonstrativos.

- Análise das respostas dos professores em relação às atividades

A análise das respostas dos professores em relação às atividades propostas no segundo momento da oficina foi realizada com base na Análise Textual Discursiva (ATD), proposta por Moraes e Galiazzi (2006). Trata-se de uma metodologia para análise de dados qualitativos que visa produzir novas compreensões sobre fenômenos e discursos, que se insere entre os extremos da análise de conteúdo e a análise do discurso.

Ou seja, a análise textual discursiva é examinada quando se organiza os argumentos em torno de quatro focos, sendo os três primeiros componentes de um ciclo, em que estão inseridos os elementos principais:

1º Passo (Desmontagem dos textos): É um processo de unitarização, no qual os textos devem ser examinados em seus detalhes, a partir de uma leitura e da releitura, para em seguida serem fragmentados com o objetivo de alcançar unidades constituintes.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

2º Passo (Estabelecimento de Relações): É um processo de categorização que envolve a construção de relação entre os elementos constituintes do texto, reunindo os elementos unitários formando conjuntos com elementos semelhantes para definição das categorias.

3º Passo (Captando o novo emergente): É um processo de compreensão do todo. Visa à construção de um metatexto resultante da categoria formada a partir da combinação dos elementos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise das ações no segundo momento da oficina

Uma discussão foi gerada quando se falou na importância de uma boa articulação entre a teoria e a prática na abordagem de conteúdos conceituais da química. Destaca-se também a emergência da crença que a experimentação é intrinsecamente motivadora (Silva e Zanon, 2000; Machita, Norita e Zurida, 2008; Morais e Santos, 2016), conforme mostra o quadro 2.

Quadro 2. *Extrato de falas da oficina 01.*

Ministrante: "O que adianta levar uma base e colocar fenolftaleína, observar a mudança de cor.... E não explicar o que aconteceu? Dessa forma o aluno vai ver aquilo que aconteceu como uma mágica, e nesse momento o professor deve intervir, explicar e levar o aluno a pensar e refletir. Se isto não for feito essa prática ao invés de facilitar a aprendizagem do aluno, faz que ele tenha visões errôneas da ciência. "

A1: "É.... só visualização causa isso mesmo. A experimentação em si já é motivadora, pois o aluno relaciona o experimento com explosão, com mudança de cor, com mau cheiro, né? "

A2: "Quando se convida os alunos para irem ao laboratório sempre a gente escuta isso: Vamos fazer uma bomba? "

B2: "Eles acham que químico só faz bomba, é impressionante! "

C1: "Quando a gente fala em levar eles para o laboratório, eles dizem logo: Vamos fazer uma bomba, hoje? "

A1: "A saída da sala de aula para o laboratório para o aluno já é um caráter motivador mesmo. "

Fonte: Elaborado pelos autores

É possível perceber que os professores concordam que a experimentação desperta o interesse dos alunos, no entanto apresentam uma visão simplista e reducionista quanto ao objetivo da experimentação no ensino. Segundo Giordan (1999) é comum os professores de ciências reconhecerem que a experimentação desperta um forte interesse entre alunos, de diversos níveis de escolarização, além de concordarem também que a experimentação aumenta a capacidade de aprendizado, pois funciona como meio de envolver o aluno nos temas em pauta. Os alunos por sua vez também atribuem à experimentação um caráter motivador

Outro momento relevante ocorreu quando os professores foram chamados a utilizar qualquer material que se encontrava sobre uma mesa, com o objetivo de exercitar a criatividade e juntar os materiais a fim de obter algum experimento. Os materiais disponibilizados foram: massa de modelar (coloridas), palitos de dente, tintura de iodo, suco de laranja, copos descartáveis, água, isqueiro, creme dental, leite de magnésia, papel indicador universal, fenolftaleína, leite, comprimido antiácido, bexigas de ar para festas, hidróxido de sódio, açúcar, permanganato de potássio, anilina, amônia, garrafas PET pequenas, vinagre, hidróxido de cálcio, canudo, ácido sulfúrico, luvas, água oxigenada, iodeto de potássio, detergente, espátula, bicarbonato de sódio, vidrarias, aquários), e velas.

Os professores tiveram a liberdade para criar e inovar, para tentar montar algum experimento. Foi perceptível o entusiasmo e interesse dos professores durante essa etapa. Alguns extratos de falas entre a ministrante do curso e os participantes da pesquisa são apresentados no quadro 3.

Quadro 3. *Extrato de falas da oficina 02.*

B2: "Pode se usar essa garrafa pet, o bicarbonato e o vinagre e fazer o experimento do balão que vai encher. "

A1: "Pode fazer aquele também, né? Que usa o iodeto com o detergente e mais alguma coisa..."

Ministrante: "Sei, o experimento da decomposição da água oxigenada. Usando-se água oxigenada, detergente e iodeto de potássio. "

A1: "Com o hidróxido de cálcio e fenolftaleína dá para fazer a do sopro mágico. "

Ministrante: "E esse recipiente de vidro (aquário), a

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

vela e o isqueiro... posso usar para explicar a combustão, né?

Fonte: Elaborado pelos autores

Análise dos experimentos apresentados pelos professores

Ainda no segundo momento da oficina de formação, os professores foram divididos em duplas e escolheram um experimento da apostila que receberam no primeiro dia de oficina. Posteriormente, apresentaram o experimento e propuseram uma um problema associado a temática. O quadro 4 mostra as duplas formadas, os experimentos escolhidos por cada uma das duplas de professores, e o problema proposto por eles, buscando o estabelecimento de uma proposta dentro do modelo de ensino por investigação.

Quadro 4. *Experimentos selecionados pelos participantes e os problemas propostos.*

Duplas	Experimento Escolhido	Problema Proposto
A1 e A2	Balão Mágico	O mesmo bicarbonato utilizado na fabricação de bolo, fazendo com que o mesmo aumente de volume, foi usado no experimento com vinagre o que fez inflar a bexiga, pois houve liberação de gás carbônico. O mesmo bicarbonato pode servir como antiácido? E no organismo vai também liberar o gás carbônico?
B1 e B2	Sopro Mágico	Porque ao soprar o gás carbônico na solução aquosa de fenolftaleína com hidróxido de cálcio deixa a solução incolor? Após a reação o pH aumenta ou diminui? Quanto a solução resultante é ácida ou básica?
C1 e D1	Vitamina C	Você acha que a vitamina "C" (sucos concentrados de laranja, acerola, limão, abacaxi) vai atuar da mesma forma com alimentos à base de farinha de trigo ou amido no organismo humano (estômago)?

Fonte: Elaborado pelos autores

Pode-se perceber que os problemas deram um caráter inicial de investigação à experimentação. Infere-se um aspecto positivo para uma experimentação diferente da demonstrativa. Transformar um experimento demonstrativo em um experimento do tipo investigativo não é fácil e exige do professor mudanças de atitudes que exigem bastante reflexão teórica e prática.

Produção dos textos: Análise Textual Discursiva

Os textos analisados, nesse caso particular o produto textual dos professores durante o último dia da oficina de formação continuada em respostas às atividades propostas, apresentam um conjunto de significantes que podem ser semelhantes ou não, aos quais cabe ao analista compreender, analisar e construir significados partindo de intenções e teorias que o orientem, não só teorias já existentes, mas também teorias novas que podem ser construídas com base nos elementos textuais dos seus interlocutores (Morais e Galiazzi, 2011; Silva,2013).

Com base na análise textual discursiva proposta por Moraes e Galiazzi (2006, 2011), e a partir das respostas sobre a pergunta citada abaixo, foram criadas algumas unidades de significado a partir da multiplicidade de significantes encontradas, fazendo a desmontagem dos textos discursivos.

Antes de analisar a produção textual final da oficina, será exemplificado a utilização da ATD utilizando como dados a resposta dos professores para a pergunta: **"Como as atividades experimentais podem ser trabalhadas no Ensino Médio de química em uma perspectiva de ensino por Investigação? "**, feita aos professores durante a aplicação da oficina. O quadro 5 apresenta a resposta dos professores:

Quadro 5. *Resposta dos professores a primeira pergunta da atividade.*

A1: "Procurar fazer experimentos simples, que possa ser abordado no mesmo vários conteúdos, levando em consideração o conhecimento prévio do aluno e as hipóteses citadas por ele. "
A2: "Partindo de um experimento do seu dia a dia, propor um experimento e em seguida ver uma situação-problema, as hipóteses. Até chegar a uma

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

conclusão. ”

B1: “A partir da problemática que o professor propor, os alunos vão investigar, analisar, para resolver o problema junto com o professor, por meio de experimentos, levando em conta o conhecimento empírico dos alunos e correlacionando ao método científico. ”

B2: “Pode ser usada para o aumento do interesse do aluno, usando como ponto chave a investigação, onde o aluno terá que pesquisar para descobrir o porquê do experimento. ”

C1: “Deve propiciar um contato maior entre o professor/aluno e fazer com que o aluno desenvolva um aspecto investigativo; ele (o aluno) vai querer sair da zona de ouvinte, para a zona de “desvendado” de problemas/situações e criará suas próprias conclusões. ”

D1: “Deve buscar um conhecimento prévio do aluno, sempre partindo de uma situação problema. ”

Fonte: Elaborado pelos autores

A partir das respostas dos professores, conjuntos de significados foram criados (quadro 6):

Quadro 6. *Conjuntos de significados para a primeira pergunta.*

Aumento do interesse do aluno – Levantamento de hipóteses – Investigar – Resgatar conhecimentos prévios – Conclusão satisfatória.
Experimentos simples – Materiais do cotidiano – Situação-Problema – Diversidade de conteúdo.

Fonte: Elaborado pelos autores

A partir das unidades de significados, pode-se observar a emergência de categorias quanto ao trabalho com atividades experimentais no ensino por investigação. Os professores apontam características referentes à estrutura das atividades experimentais, o que deve compor suas etapas e o que o professor deve levar em consideração na hora de desenvolver uma atividade experimental, o que estudante traz para sala de aula, ou seja, seu ponto de vista, de forma a despertar o interesse pela investigação. Assim, surgem duas categorias:

1. Os professores direcionam suas respostas nas etapas da experimentação por investigação;

2. Os professores colocam o aluno como sujeito ativo da atividade experimental baseada no ensino por investigação.

Observa-se que nas crenças dos professores sobre a experimentação há uma maior preocupação com as etapas que um experimento deve ter para ser motivador, ou seja, aumentar o interesse do aluno em aprender. Foi possível visualizar também traços de uma concepção de experimentação centrada no ensino por investigação no qual apontam que devem ser propostas aos alunos situações-problema, fazendo com que investiguem, lancem hipóteses e cheguem a uma conclusão satisfatória. Ainda, parece que os professores acreditam também que os conhecimentos prévios dos alunos devem ser considerados e que é importante a utilização de experimentos simples utilizando materiais do cotidiano.

Com base na Análise Textual Discursiva percebe-se que os professores apontaram passos necessários para uma experimentação do tipo investigativa, como a elaboração de um problema proposto por eles, o lançamento de hipóteses e a investigação do problema pelos alunos. Destacaram ainda a importância do resgate dos conhecimentos prévios e que, nesse tipo de atividade experimental, o aluno participa ativamente do processo de construção do conhecimento.

Retomando a última atividade, foi solicitado aos professores que escrevessem sobre as impressões que eles tiveram sobre o trabalho realizado nos dias de intervenção. Fez-se um recorte nas respostas dos professores sobre tais impressões sobre a oficina e, a partir do recorte, foi possível observar um conjunto de significantes nos discursos textuais, utilizados para criação de alguns significados, apresentados no quadro 7.

Quadro 7. *Conjuntos de significados para as impressões sobre a oficina.*

Ajuda ao professor a refletir sobre experimentação – Mostra a necessidade de se realizar atividades experimentais tendo ou não laboratório.
É importante principalmente para os professores não formados na área – É importante para a prática do professor.
Muito proveitoso – Aprendem muito – Boa didática – Boa metodologia – Atendeu as expectativas sobre experimentação por investigação.

Fonte: Elaborado pelos autores

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

A partir das unidades de significados que surgiram nos textos escritos pelos professores, observar-se a emergência de categorias, quanto à impressão sobre o trabalho realizado nos dias de oficina. Os professores abalizam características indicativas quanto à necessidade de realização de atividades experimentais e a importância da formação continuada, utilizando boa metodologia, são muito proveitosas e ajudam na aprendizagem. Também é perceptível um aspecto importante no que concerne as expectativas atendidas sobre a experimentação por investigação, contemplando assim os objetivos da oficina. Emergiram três categorias:

1. Para os professores a oficina de formação foi importante, pois mostrou que os experimentos podem ser realizados até mesmo em escolas sem laboratório;

2. Os professores destacam a importância de oficinas de formação como a que foi realizada, principalmente para professores que não são formados na área em que atuam;

3. Os professores ressaltam que o trabalho realizado foi proveitoso devido à forma que foi conduzido atendendo suas expectativas sobre a experimentação por investigação.

A segunda categoria somente reafirma o que as recentes pesquisas têm mostrado, sobre importância da formação continuada para professores e sobretudo para aqueles não formados na área em que atuam. Rosito (2008) afirma que o curso de graduação é apenas o ponto de partida da formação do professor e não consegue dar conta de toda as necessidades formativas do profissional. Assim, é fundamental que exista o processo de formação continuada, realizada durante toda a vida profissional e que ocorre em cursos de atualização, grupos de estudos e oficinas de formação, como a sugerida nessa pesquisa.

Por fim, a última categoria formada foi de suma importância para o trabalho, pois os professores afirmaram que a oficina atendeu as suas perspectivas sobre a experimentação por investigação.

CONCLUSÕES

Conforme Azevedo (2012) defende, o professor que se dispuser a utilizar em suas aulas uma atividade investigativa, deve se tornar um professor questionador, que argumente, saiba conduzir perguntas, instigar, sugerir desafios, deixando de ser apenas um expositor e tornando-se um orientador do processo de ensino.

Os professores participantes da oficina desenvolvida nesta pesquisa valorizaram a proposta de trabalho experimental por meio do Ensino por Investigação, e aparentemente acreditam que nesse tipo de atividade a participação do aluno vai ser mais ativa durante a realização das atividades em sala de aula, ampliando as possibilidades e enriquecendo os processos de ensino e de aprendizagem.

Percebe-se a relevância e eficácia na proposta de oficina de formação, já que ela promoveu reflexões importantes quanto ao uso de atividades experimentais aos participantes da pesquisa, além das suas potencialidades, tendo em vista que a elaboração de problemas para os experimentos e as respostas as atividades direcionam passos para uma atividade investigativa. Pode ter configurado um passo inicial para promover mudanças de procedimentos das aulas práticas desses professores.

Acredita-se que os resultados apresentados neste trabalho podem contribuir para a formação dos professores e possibilitar uma melhoria qualitativa na utilização de atividades experimentais, contribuindo assim a aprendizagem mais efetiva dos alunos e para melhorias no ensino de química.

REFERÊNCIAS

1. Azevedo, M. C. P. S. Em Ensino de ciências: unindo a pesquisa e a prática; Carvalho, A. M. P., org., Cengage Learning: São Paulo, 2012, cap. 2

2. Campos, M. C. C.; Nigro, R. G. Didática das ciências: o ensino-aprendizagem como investigação. FTD: São Paulo, 1999.

3. Cardoso, S. P.; Colinvaux, D., Química Nova, 2000, 23, 2.

4. Delizoicov, D.; Angotti, J. A.; Pernambuco, M.M. Ensino de ciências: fundamentos e métodos, 4ª ed., Cortez: São Paulo, 2011.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

5. Ferreira, P. F. M.; Justi, R. S., Química Nova na Escola, 2008, 28.

6. Galiazzi, M. C.; Gonçalves, F. P., Química Nova, 2004, 27, 2.

7. Gil-Pérez, D., Enseñanza de las Ciencias, 1993, 11, 2.

8. Gil-Pérez, D.; Montoro, I.F.; Alís, J. C.; Cachapuz, A.; Praia, J., Ciência & Educação, 2001, 7, 2.

9. Giordan, M., Química Nova na Escola, 1999, 10.

10. Machita, A.; Norita, M.; Zurita, H. I., Journal of Science and Mathematics Education in SE Asia, 2008, 30, 8.

11. Moraes, R.; Galiazzi, M. C., Ciência & Educação, 2006, 12, 1.

12. Moraes, R.; Galiazzi, M. C. Análise Textual Discursiva, 2ª ed., EdUnijuí: Ijuí, 2011.

13. Meirieu, P., Aprender... sim, mas como?, 7ª ed., Artmed: Porto Alegre, 1998.

14. Morais, V. C. S.; Santos, A. B., Investigações em Ensino de Ciências, 2016, 21,1.

15. Mortimer, E. F., Science & Education, 1995, 4, 3.

16. Mortimer, E. F., Investigações em Ensino de Ciências, 1996, 1, 1.

17. Pessoa, W. R.; Alves, J. M., Anais do VIII Encontro Nacional de Pesquisa em Educação em Ciências, Goiânia, Brasil, 2011.

18. Posner, G. J.; Strike, K. A.; Hewson, P. W.; Gertzog, W. A., Science Education, 66, 2.

19. Pozo, J. I,; Gómez Crespo, M. A. A aprendizagem e o ensino de ciências: do conhecimento cotidiano para o conhecimento Científico, 5ª ed., Artmed: Porto Alegre, 2009.

20. Ramírez, J. L.; Gil-Pérez, D.; Martínez-Torregrosa, J., La resolución deproblemas de física y de química como investigación, SPMEC: Madrid,1994.

21. Rosito, B. A. Em Construtivismo e ensino de ciências: reflexões epistemológicas e metodológicas, Moraes, R. org., 3ª ed., EdiPUCRS: Porto Alegre, 2008, cap. 7

22. Silva, L. H. A.; Zanon, L. B. A. Em Ensino de Ciências: fundamentos e abordagens, Schnetzler, R. P.; Aragão, R. M. R., orgs., UNIMEP: Piracicaba, 2000.

23. Silva, R.; Machado, P.; Tunes, E. Em O Ensino de Química em Foco, Maldaner, O.; Santos, W., orgs. EdUnijuí: Ijuí, 2010, cap. 10.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ÓXIDO DE ETILENO COMO AGENTE ESTERILIZANTE: CARACTERÍSTICAS GERAIS, TOXICIDADE E COMPARAÇÃO COM OUTROS SANEANTES E MÉTODOS DE ESTERILIZAÇÃO

ETHYLENE OXIDE AS A STERILIZING AGENT: GENERAL CHARACTERISTICS, TOXICITY AND COMPARISON WITH OTHERS SANEANTES AND STERILIZATION METHODS

ANDRADE JÚNIOR, Francisco Patricio de[1]; ROMANO, Thalyta Karem Ferreira[1]; LIMA, Brenda Tamires de Medeiros*[1]; SOUZA, Élida Kaline Melo de[1]; ALVES, Thiago Willame Barbosa; SILVA, Isabela Bezerra da[1]; MORAIS, Maria Franncielly Simões de[1]; SOUZA, Júlia Beatriz Pereira de[2].

[1] Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, Unidade Acadêmica de Saúde, Olho D'água da Bica S/N, cep 58175-000, Cuité – PB, Brasil.
(fone: +55 84 98135-7242)

[2] Profª Drª da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, Unidade Acadêmica de Saúde, Olho D'água da Bica S/N, cep 58175-000, Cuité – PB, Brasil.
(fone: +55 83 99921-9976)

** Autor correspondente*
e-mail: brendatamiresml@gmail.com

Received 29 June 2018; received in revised form 09 August 2018; accepted 10 August 2018

RESUMO

O gás óxido de etileno é altamente tóxico, facilmente inflamável e explosivo, sendo também carcinogênico, mutagênico, teratogênico e neurotóxico. Contudo, trata-se de um excelente esterilizante, sobretudo, quando aplicado a materiais médico-hospitalares termossensíveis. O presente estudo teve como objetivo realizar uma revisão bibliográfica sobre o óxido de etileno ressaltando suas características gerais, toxicidade e a comparação com outros métodos de esterilização. Trata-se de uma revisão narrativa, em que a recuperação de estudos ocorreu nas bases de dados Lilacs, Scielo, *PubMed*, *Science Direct*, Periódicos Capes e Bancos de Teses e Dissertações de Universidades Públicas. Foram recuperados 126 estudos, sendo que somente 43 foram utilizados para a construção deste trabalho. O óxido de etileno é caracterizado como um método físico-químico excelente, de fácil difusão e eficiência contra todos os microrganismos, desde que seja corretamente utilizado. Ao compará-lo com outros métodos de esterilização como autoclavação, PPH e VBTF, o óxido de etileno mostrou-se mais eficiente, a depender do tipo de material submetido ao processo de esterilização. Entretanto, devido sua capacidade de contribuir para o desenvolvimento de cânceres, principalmente do sistema linfohematopoiético, o seu desuso e desagrado por parte dos profissionais de saúde, serviços de saúde e empresas vem tornando-se frequente.

Palavras-chave: *Óxido de etileno*, *esterilização*, *toxicidade*.

ABSTRACT

Ethylene oxide gas is highly toxic, highly flammable and explosive. It is also carcinogenic, mutagenic, teratogenic and neurotoxic. However, it is an excellent sterilant especially when applied to thermally sensitive medical and hospital materials. The present study aimed to carry out a literature review on ethylene oxide emphasizing its general characteristics, toxicity and comparison with other methods of sterilization. This is a narrative review, in which the retrieval of studies occurred in the databases Lilacs, Scielo, PubMed, Science Direct, Periódicos Capes and Theses Banks and dissertations of the public universities. A total of 126 studies were retrieved, and only 43 were used for the construction of this work. Ethylene oxide is characterized as an excellent physicochemical method, easy to diffuse and efficient against all microorganisms, provided it is correctly used. Compared with other sterilization methods such as autoclaving, PPH and VBTF, ethylene oxide proved to be more efficient, depending on the type of material submitted to the sterilization process. However,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

due to its capacity to contribute to the development of cancer, mainly the lymphohematopoietic system, its disuse and displeasure by health professionals, health services and companies has become frequent.

Keywords: *Ethylene oxide, sterilization, toxicity*.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, no que se diz respeito à área da saúde, houve um rápido e crescente desenvolvimento tecnológico, tanto das técnicas e procedimentos, quanto dos materiais médico-hospitalares. Foram desenvolvidos produtos médicos de alta complexidade, de valores elevados e bastante onerosos para as instituições hospitalares e, devido à pressão para reduzir os custos, a reutilização destes produtos tornou-se prática comum. (SILVA; PINTO, 2005; SUNDIN, 2014; SUNDIN; MACHADO NETO, 2012).

Tecnologias de limpeza, desinfecção e esterilização foram desenvolvidas para tornar possível e segura a reutilização de instrumentais e equipamentos médico-hospitalares. Contudo, quando se trata de esterilização propriamente dita, esta pode ser conceituada como um método empregado para a utilização segura de produtos médicos em procedimentos diversos que promove eliminação ou destruição de todas as formas viáveis de microrganismos para um aceitável nível de segurança a fim de evitar possíveis infecções (MORIYA; MÓDENA, 2008; ASCARI *et al*., 2012; SUNDIN; MACHADO NETO, 2012).

Inúmeros são os métodos de esterilização difundidos e utilizados, dentre eles, tem-se a esterilização pelo óxido de etileno é amplamente usada em materiais médico-hospitalares com componentes plásticos ou termossensíveis que não resistem a temperaturas superiores a 60°C ou a processos de radiação.

Sintetizado por Wurtz em 1859 e utilizado desde a década de cinquenta do século passado, somente em 1992 o Ministério da Saúde autorizou a utilização do óxido de etileno como agente químico para esterilização, segundo a portaria 930/1992, denominando-o como saneante. Este é o mais antigo método de esterilização à baixa temperatura (PINTO; GAMOEDO, 2002; GOVEIA, PINHEIRO, GRAZZIANO, 2007; MORIYA, MÓDENA, 2008; SUNDIN, MACHADO NETO, 2012; SANTOS 2010).

O óxido de etileno é um gás liquefeito, incolor, altamente inflamável, tóxico e de composição química C_2H_4O. É acondicionado em forma líquida pressurizado com nitrogênio e, em concentrações acima de 500 ppm, possui odor etéreo não residual. Além disso, é considerado um agente químico de alta eficácia que age à baixa temperatura devido ao seu poder de alta penetração e a capacidade destruição de microrganismos formadores de esporos (ABDO; RODRIGUES; FREITAS, 2010).

Por outro lado, a portaria nº 482 retrata o gás óxido de etileno como altamente tóxico, facilmente inflamável e explosivo, sendo também carcinogênico, mutagênico, teratogênico e neurotóxico (BRASIL, 1999). Apresentando, portanto, desvantagens que devem ser consideradas.

Deste modo, levando em consideração a falta de publicações atuais que reúnam informações concisas acerca do óxido de etileno como agente esterilizante, o presente estudo teve como objetivo realizar uma revisão do tipo narrativa sobre o óxido de etileno ressaltando suas características gerais, toxicidade e a comparação entre outros métodos de esterilização.

DESENVOLVIMENTO

2.1. Delineamento do estudo

O presente estudo tratou-se de uma revisão bibliográfica do tipo narrativa. Houve a recuperação de artigos, livros, Portarias do Ministério da Saúde, monografias, dissertações e teses publicadas em língua portuguesa e inglesa, utilizando-se os delimitadores e palavras-chaves: 1) Óxido de etileno; 2) Esterilização; 3) Métodos de Esterilização; 4) Mecanismo de Ação; 5) Toxicidade; 6) *Ethylene oxide*; 7) *Sterilization*; 8) *Methods of sterilization*; 9) *Mechanism of action*; 10) *Toxicity*; utilizados isolados e associados em várias combinações.

2.2. Critérios de inclusão e exclusão

Foram incluídos estudos que em seu conteúdo trouxessem informações relevantes

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

acerca da utilização do óxido de etileno como agente esterilizante, de artigo publicados durante os anos de 2000 a 2017. Estudos que não atenderam o tempo cronológico delimitado ou realizados com outros agentes esterilizantes sem que houvesse comparações com o óxido de etileno, foram excluídos. Desta forma, foram analisados 126 estudos, dos quais somente 43 foram utilizados para a construção desse artigo.

2.3. Fontes de informação

Os artigos foram recuperados a partir das bases de dados: Lilacs (Centro América Latina e Caribe em Ciências da Saúde), *Scielo* (Scientific Eletronic Library Online), *PubMed*, *Science Direct*, Periódicos Capes e Bancos de Teses e Dissertações de Universidades Públicas. O levantamento bibliográfico ocorreu entre abril e maio de 2018; a última atualização foi realizada em 13/05/2018.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

3.1. Características gerais relacionadas ao processo de esterilização utilizando o óxido de etileno

O estabelecimento de normas e de métodos de esterilização que sejam seguros são importantes para garantir não somente a melhor assistência à saúde, mas também para diminuir as infecções, sobretudo, em hospitais (BARBOSA; SARTORI, 2017).

O óxido de etileno (OE) é um dos agentes mais utilizados para a esterilização e reesterilização de materiais médico-hospitalares, principalmente os termossensíveis (GOVEIA *et al*., 2007; FUSCO; SPIRI, 2014).

A utilização do OE para fins esterilizantes em artigos médicos, se dá por método gasoso cuja a esterilização eficiente irá depender do contato direto desse gás com todas as superfícies do material (CAMARGO; FEITOSA; GRAZIANO, 2014). Entretanto, para poder ser utilizado, deve ser previamente misturado com gases inertes, para que o mesmo torne-se não-inflamável e não-explosivo (CARVALHO, 2009).

O processo de esterilização utilizando este saneante é considerado um método físico-químico e tornou-se uma das opções mais utilizadas para esterilização de materiais termossensíveis. Este gás apresenta concentração de 450 mg/L a 1200 mg/L, além de ser utilizado em temperaturas de 45 a 60 °C com uma umidade de 20 a 40%, com tempo de exposição do material variando entre 2 a 5 horas (ARCHANJO, 2012).

Contudo, mesmo o OE sendo considerado eficiente na esterilização de materiais médico-hospitalares, a limpeza anterior a esterilização, no caso de materiais de reuso, é de grande valia, devido possibilitar a diminuição da carga microbiana, interferentes e contaminantes.

A limpeza pode ser realizada manualmente ou automatizada, de forma que sempre haverá a utilização de água e sabão. Para equipamentos e artigos médicos com muitas partes, estes devem ser desmontados para garantir que sua limpeza ocorra. A utilização de detergentes enzimáticos têm demonstrado sucesso como agentes limpadores de alta eficiência, por terem a capacidade de limpar satisfatoriamente sangue, pus e fluídos (SILVA *et al*., 2005).

O processo de esterilização com óxido de etileno normalmente inclui uma fase de pré-condicionamento ou condicionamento, seguida de vácuo para a retirada do ar do interior da câmara, entrada de gás inerte e agente esterilizante (óxido de etileno), exposição (fase de esterilização propriamente dita), lavagens com gás inerte e ar para remover resíduos de óxido de etileno e, por fim, uma aeração completa para eliminar o gás da carga (MORIYA; MÓDENA, 2008; SUNDIN, 2014).

A esterilização, propriamente dita, é realizada em um equipamento, no qual os produtos médicos, primeiramente embalados com invólucros de esterilização, são postos em cestos e em seguida submetidos à esterilização. Nesse processo, alguns parâmetros são controlados, dentre eles estão: o tempo, a temperatura, a umidade e concentração do óxido de etileno. Em seguida, os materiais são aerados no interior do equipamento, por um período de tempo estabelecido, submetidos a pulsos de ar comprimido e nitrogênio para remover o máximo possível de resíduos do óxido de etileno. No fim do processo de esterilização, os cestos que contém os materiais médicos são direcionados para uma sala de aeração ambiental, na qual os produtos permanecem, havendo a renovação do ar ambiente. Após um tempo pré-estabelecido, os materiais estão prontos para uso (SUNDIN, 2014).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

A Unidade de Esterilização (UE), deve garantir a eficácia do processo, de forma que os resíduos do óxido de etileno e de seus derivados, após a esterilização, reesterilização ou reprocessamento (BRASIL, 1999), não devem ultrapassar os valores especificados na tabela 1.

Tabela 1. *Limites máximos de resíduos em correlatos em ppm*

Correlatos	ETO*	ETCH**	ETG***
Implantes	-	-	-
Pequenos (10g)	250	250	5.000
Médios (>10 - <1000g)	100	100	2.000
Grandes (>100g)	25	25	500
Dispositivos intra-uterinos	5	10	10
Lentes intra-oculares	25	25	500
Correlatos que contatam a mucosa	250	250	5.000
Correlatos que contatam o sangue	25	25	250
Correlatos que contatam a pele	250	250	5.000
Esponjadas cirúrgicas	25	250	500

*ETO = óxido de etileno; ** ETCH = etileno cloridrina; *** ETG = etilenoglicol.
Fonte: Adaptado de BRASIL, 1999.

Para a validação do processo, alguns microrganismos podem ser utilizados para permitir o monitoramento dos sistemas de esterilização a gás utilizando óxido de etileno, a exemplo do *Bacillus atrophaeus*. Neste procedimento, contamina-se algum artigo médico com o bacilo e o esteriliza, utilizando o saneante; após o processo, se for constatado a ausência de esporos, indica-se que a esterilização foi válida (GRUCHINSKI, 2014).

O OE tem demonstrado ser um eficiente esterilizante frente a diversos tipos de microrganismos, especialmente em instrumentos complexos ou sensíveis (SILVA *et al*., 2005) destacando-se instrumentos para uso intravenoso, aparelhos para monitorização invasiva, marca-passos, broncoscópios e eletrodos (CARVALHO, 2009). Ademais, esse agente demonstrou ser eficiente e biocompatível como agente esterilizante em implantes mamários de silicone (AZEVEDO; CRUZ; PINTO, 2006).

3.1.2 Vantagens e desvantagens

O óxido de etileno tem como vantagens: ser bactericida, esporocida e virucida; se faz esterilizante a baixas temperaturas; é facilmente removível; sua obtenção, armazenamento e manuseio são acessíveis; é capaz de esterilizar uma gama de instrumentos e equipamentos sem danificá-los; é um método de esterilização econômico, simples e seguro e o material a ser esterilizado pode ser estocado por um período de tempo prolongado (MORIYA; MÓDENA, 2008; BERTANI; OLIVEIRA; ALVERNAZ, 2008).

Contudo, algumas desvantagens podem ser elencadas como: o custo elevado quando o serviço de esterilização é terceirizado; tempo de exposição estendido, geralmente maiores que 12 horas; potenciais riscos para pacientes, funcionários e meio ambiente e o tempo de aeração, que pode variar de 6 horas a 7 dias, a depender da composição e tamanho dos artigos esterilizados, do sistema de aeração e do tipo de esterilização utilizados, por exemplo. Por se tratar de um gás inflamável e explosivo é necessária a existência de uma área projetada, de forma a promover um fluxo de trabalho eficiente, tecnologia e equipamentos adequados, bem como uma equipe treinada (MENDES; BRANDÃO; SILVA, 2012; WILSON; NAYAK, 2013).

3.2. Toxicidade

Devido sua aplicação em diversas atividades, o óxido de etileno, vem sendo utilizado em fabricação de produtos médicos, fumigação de pesticidas e esterilização em hospitais; mesmo sendo usado em processos fechados e automatizados, com geralmente níveis abaixo de 1 ppm, a maior exposição a este produto químico se dá em trabalhadores (principalmente em carga e descarga do material, coleta de amostras de produto e execução de serviços de manutenção), aumentando assim os riscos de intoxicação ocupacional (LAUDOU; HARRISON, 2016).

Grande parte dos dados de exposição ocupacional tem relação com a produção do óxido de etileno e seu uso na esterilização industrial e hospitalar (IARC, 2012). No âmbito da esterilização de materiais hospitalares, a exposição ao óxido de etileno ocorre na abertura

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

de esterilizadores, transferência de itens recém esterilizados para área de aeração ou abastecimento, troca de tanques e pontos de descarga do gás (LAUDOU; HARRISON, 2016).

Ademais, reações em materiais poliméricos são observados quando estes entram em contato com o óxido de etileno, ocasionando a produção de substâncias tóxicas ou a permanência de resíduos nos materiais, podendo resultar em riscos reais e potenciais a saúde dos profissionais que o manuseiam e dos pacientes no qual estes serão utilizados (BRASIL, 1999; SOUSA *et al*., 2011). Além disso, é sabido que a exposição ao óxido de etileno pode causar o desenvolvimento de diversas enfermidades devido sua toxicidade (BRASIL, 1999; XELEGATI *et al*., 2006).

3.2.1 Toxicocinética

Por tratar-se de um gás, quando está em temperatura e pressão ambiente, a inalação é a via primária de exposição ao do óxido de etileno, podendo ser absorvido também por via tópica (mesmo com a pele intacta). É rapidamente absorvido pelo trato respiratório, e por possuir alta solubilidade no sangue, a absorção está diretamente relacionada com a taxa de ventilação e concentração de óxido de etileno no ar inspirado, sendo distribuído por todo o corpo após a absorção (OSLON, 2014; PAROD, 2014).

Após a absorção e distribuição, o OE é metabolizado através de reações de hidrólise, formando 1,2-etanodiol, hidroxiacetaldeído, ácido glicólico, ácido glioxílico, ácido fórmico, ácido oxálico, e dióxido de carbono ou por reações de conjugação com glutationa, havendo a produção de ácidos mercaptúricos. Ambas vias de metabolização estão diretamente relacionadas com a desintoxicação do paciente, tendo os produtos formados excretados na urina, havendo ainda uma parte do gás exalado sendo eliminado de forma inalterada na expiração. Uma das principais características do OE é sua capacidade de reagir com macromoléculas celulares, como por exemplo a Hemoglobina (Hgb) e DNA, havendo assim a formação de adutos (Figura 1) (KIRMAN; HAYS, 2017)

Adutos de DNA e/ou proteínas formados através da reação com agentes químicos potencialmente mutagênicos podem ser utilizados como biomarcador de exposição e ter seus dados associados à estudos de carcinogênese (GARCIA, 2011).

A maioria destes biomarcadores de exposição podem ser dosados e identificados, por exemplo, através da combinação das técnicas de cromatografia líquida e espectrometria de massa (IARC, 2012). Entretanto, os adutos formados de hemoglobina são melhores indicadores gerais de exposição por serem mais estáveis, tendo em vista que adutos de DNA, por outro lado, podem ser reparados ou fixados como mutações, sendo medidas menos precisas de exposição. Com isso, diversos estudos evidenciam dados referentes ao risco de câncer para humanos expostos a este esterilizante, tendo principal relação com os cânceres do sistema linfohematopoiético, se destacando a leucemia e câncer do tecido linfático (USEPA, 2016).

Deste modo, o OE é considerado um agente causador de risco ocupacional para trabalhadores da área da saúde, tendo em vista o potencial cancerígeno que esta substância apresenta. A Agência Internacional de Pesquisas sobre Câncer (IARC) coloca o composto no grupo 1, ao qual pertencem os agentes que são carcinogênicos para humanos, havendo portanto, evidências suficientes para classificá-lo como tal (PARTANEN; MONGE; WESSELING, 2009; IARC, 2012). Suspeita-se que a exposição prolongada ao óxido de etileno pode contribuir para o desenvolvimento de tumores linfoides, linfoma não-Hodgkin, mieloma múltiplo e leucemia linfocítica crônica, além do câncer de mama (IARC, 2012).

3.2.2 Toxicidade evidenciada em seres humanos e em modelos animais

Estudos desenvolvidos em ratos demonstraram que com a exposição de aproximadamente 0,5 ppm, cerca de 100% do óxido de etileno inspirado é absorvido, e em concentrações mais elevadas, a percentagem absorvida diminui de 90% (10 ppm) a 68% (100 ppm) e cai para 36% a 1000 ppm. Já em seres humanos expostos a níveis que vão desde 0,1 a 10 ppm, são absorvidos em torno de 75 - 80% do óxido de etileno inspirado (PAROD, 2014).

Em casos de exposição aguda, o contato direto com o gás ocasiona em irritação nos olhos, mucosas e pulmões, não sendo possível basear-se no odor como sinal de alerta de exposição excessiva, havendo também relatos de asma ocupacional posterior ao ocorrido. Com isso, frente a este tipo de exposição (aguda) ocorre o surgimento de sintomas relacionados a irritação

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

no trato respiratório superior sob concentrações entre 200 a 400 ppm, e acima de 1000 ppm (superexposição) observa-se cefaleia, náuseas, dispneia, vômito, sonolência, fraqueza e falta de coordenação. O contato com o óxido de etileno líquido, por sua vez, pode causar queimaduras, irritação grave e dermatites, tendo a absorção minimizada pela rápida evaporação. Além disso, a presença de linfocitose pode ser encontrada em achados laboratoriais após a exposição aguda (OSLON, 2014; LAUDOU; HARRISON, 2016).

Efeitos carcinogênicos em humanos têm sido evidenciados, sendo a leucemia mais comumente observada em trabalhadores expostos cronicamente ao OE, enquanto que em modelos animais a toxicidade neurológica e reprodutiva tem estado presente (OSLON, 2014; LAUDOU; HARRISON, 2016). Contudo, em seres humanos a possibilidade de abortos ocasionadas pela exposição ao OE é relatada em estudos antigos, como o de Hemmini *et al*., (1982) que observaram uma frequência aumentada da ocorrência de abortos espontâneos entre trabalhadoras envolvidas em procedimentos de esterilização nos quais usava-se o EO como agente esterilizante.

Devido ao alto potencial de desencadear toxicidade ocupacional ao óxido de etileno, a OSHA (Occupational Safety and Health Administration – EUA) regulamenta os limites de exposição permitidos no local de trabalho, para que não haja danos à saúde dos trabalhadores, em que deve ser de 1ppm (1,8mg/m³) no ar em um TWA (Time Weighted Average) de 8 horas. Em locais em que a exposição ocupacional de trabalhadores ao produto exceda o valor regulamentado, há a necessidade de supervisão médica. (OSLON, 2014).

3.2.3 Mecanismo de toxicidade e medidas preventivas

No mecanismo de toxicidade, o óxido de etileno reage diretamente com o DNA e proteínas, levando à morte celular, sendo potencialmente teratogênico, mutagênico e carcinogênico (OSLON, 2014). O OE atua como um agente alquilante direto em que pode atacar os sítios nucleofílicos das bases nitrogenadas do DNA para formar uma variedade de adutos. O aduto de DNA mais abundantemente formado a partir da reação com o óxido de etileno é o N7-(2-hidroxietil)guanina, que pode sofrer depurinação espontânea ou enzimática para formar sítios abásicos, causando consequente mutação (HUANG, 2011). Além disso o OE, apresenta a capacidade de reagir com a hemoglobina, formando o aduto N-(2-hidroxietil)valina (HEV) (RIVERO *et al*., 2009). Com isso, culminam evidências de que o potencial carcinogênico do óxido de etileno dá-se através de um mecanismo genotóxico (IARC, 2012).

Assim, medidas de prevenção aos riscos de exposição ocupacional do OE devem ser tomadas, de forma que os trabalhadores expostos devem estar equipados com EPIs (Equipamentos de Proteção Individual) adequados, tendo a substituição periódica de acordo com o tempo de utilização. Além disso, é necessário estabelecer programas de vigilância epidemiológica, incluindo a educação dos trabalhadores em relação aos efeitos adversos, padrões de higiene e segurança para o manuseio seguro do óxido de etileno, assim como, o monitoramento ambiental, biológico e descarte de resíduos tóxicos (RIVERO *et al*., 2009).

Todavia, torna-se relevante salientar a importância da organização e valorização de medidas educativas no sentido de alertá-los e instigá-los ao pensamento crítico e interpretativo, tornando-os conscientes e seguros da realidade vivenciada cotidianamente (COSTA *et al*., 2017).

3.2.4 Diagnóstico laboratorial

No que diz respeito ao diagnóstico e tratamento de pacientes intoxicados, é relevante considerar a consulta com um clínico toxicologista qualificado, o qual apresentará conhecimento hábil para identificar determinada intoxicação (YOUNG, 2014).

A partir de uma perspectiva ocupacional, é importante que haja um acompanhamento adequado diante dos trabalhadores expostos ao óxido de etileno. Tradicionalmente, o método mais comum para biomonitoramento é a medida dos metabólitos EO (na urina) ou dos adutos de EO (hemoglobina e DNA). No entanto, os estudos citogenéticos fornecem informações significativas em relação à toxicidade (GHOSH; GODDERIS, 2016).

Além disso, é imprescindível que haja a realização de exames médicos periódicos que enfatizem os sistemas pulmonar, hematológico, neurológico e reprodutivo, bem como os olhos e a pele, os quais são os principais afetados (RIVERO *et al*., 2009).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

3.3. Comparação com outros métodos e formas de esterilização

No estudo de Batista Neto *et al*., (2010) foi observada a eficácia de diferentes métodos de esterilização frente a canetas de bisturi elétrico de uso único. Para o óxido de etileno foram analisadas 59 amostras pelo método de esterilização manual e 58 pelo método de esterilização automatizado. A probabilidade de falha na esterilização foi de 0,36% pelo método manual e 0,05% pelo método automatizado. Já em um estudo feito por Münker *et al*., (2018) testou-se diferentes métodos de esterilização para dispositivos médicos a base de que são baseados em PMMA (Poli metacrilato de metila), um cimento ósseo utilizado para fixação de implantes de joelho e quadril. O estudo demonstrou que a autoclave não foi eficiente para esterilização desses materiais, ao passo que o óxido de etileno, o plasma de gás peróxido de hidrogênio e a γ-irradiação foram métodos adequados para esterilização destes dispositivos.

No estudo de Snyder *et al*., (2017), por sua vez, foram avaliados três métodos de esterilização para duodenoscópios, onde resultou-se que não foram encontradas diferenças significativas entre desinfecção de alto nível padrão (DHSL), desinfecção de alto nível duplo (DHL) ou desinfecção de alto nível padrão seguida de esterilização por gás de óxido de etileno (HLD/ETO) para as contaminações bacterianas.

Um estudo realizado por Kiminami *et al*., (2017) demonstrou o impacto dos métodos de esterilização sobre seringas de baseadas em polímeros, passíveis de formação de proteínas e partículas. Nas seringas que foram esterilizadas a vapor ou que não foram esterilizadas, não foi observada a formação de partículas. Em contrapartida, as seringas que foram esterilizadas com óxido de etileno apresentaram um pequeno aumento na massa de partículas e agregados, demonstrando pouca qualidade e segurança para este produto. Outro método de esterilização utilizado, o de radiação, promoveu a formação de radicais residuais nestes materiais

Bhatnagar *et al*., (2016) investigaram os efeitos de quatro métodos de esterilização sobre propriedades físico-químicas e morfológicas de polímeros de alguns dispositivos médicos. Estes métodos incluíram: óxido de etileno, peróxido de hidrogênio vaporizado, radiação gama e feixe de elétrons. Relacionando-se ao óxido de etileno, este promoveu uma degradação significativa dos polímeros. Os outros métodos também causaram alterações na estrutura dos polímeros, permitindo ressaltar que é importante conhecer a estrutura química dos compostos para realizar uma posterior esterilização.

Em estudo realizado por Santos *et al*., (2008) foi observado que o óxido de etileno juntamente com outras técnicas de esterilização, utilizados em trocartes de uso único, reprocessados após o primeiro uso em pacientes que foram submetidos à colecistectomia laparoscópica eletiva, encontrou resultados de esterilidade em 100% (N= 28) das amostras, após a limpeza e esterilização por três métodos (óxido de etileno, vapor à baixa temperatura e formaldeído, e plasma de peróxido de hidrogênio), onde antes de sua esterilização bactérias (*Staphylococcus* spp*., Haempophillus* spp*., Corynebacterium* spp*., Klebsiella* spp*., Peptococcus* spp*., Serratia mearcescens, Propionibacterium* spp*., Enterobacter* spp*., Sarcinia* spp*., Streptococcus* spp*.* alfa hemolítico*, Proteus* spp*., Escherichia coli* e *Bacillus* spp*.)* e fungos (*Candida* spp*., Rodothorulla* spp*.)* foram encontrados em 46,5% das amostras (N= 13), demostrando que as técnicas empregadas foram eficientes.

No estudo de Pinto *et al*., (2012), por sua vez, foi investigado nove sondas para vitrectomia de uso único (reprocessadas após o uso) reprocessadas, embaladas e esterilizadas, em seguida foram segmentadas em 979 unidades de 3,5 cm e semeadas em meio de cultura Tríptico de Soja (TSB), observando-se que houve crescimento microbiano em 57 (5,8%) das unidades amostrais, sendo 25 esterilizadas por óxido de etileno, 16 por plasma de peróxido de hidrogênio e 16 por vapor á baixa temperatura e formaldeído, demostrando falha nas três técnicas aplicadas, dando destaque para a maior ineficiência do óxido de etileno, encontrando-se com maior prevalência, microrganismos como: *Micrococcus spp., Staphylococcus* coagulase negativa*, Pseudomonas spp.* e *Bacillus subtilis*.

Quando a esterilização por OE é comparada com o Plasma de Peródico de Hidrogênio (PPH) e Vapor de Baixa Temperatura de Formaldeído (VBTF), pode-se perceber que a primeira técnica apresenta incompatibilidade com produtos contendo celulose (papel, algodão e gaze), restringindo o seu uso e a segunda técnica utiliza uma grande quantidade de

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

formaldeído que pode ser absorvido pelos artigos médico hospitalares, podendo haver incompatibilidade, ocorrendo ainda variação de temperatura e consequentemente deformação do material médico hospitalar (OLIVEIRA, 2000). Já o óxido de etileno é altamente penetrante, difuso e solúvel, não danificando os materiais médico-hospitalares, sendo uma alternativa para os mais diversos materiais.

Para a esterilização de instrumental laparoscópico montado, o estudo de Camargo, Feitosa e Graziano (2014) concluiu que os princípios físicos do calor latente e da condução térmica promovem a possibilidade de segurança para autoclavação de tais materiais permanentes montados, diferente dos métodos gasosos, incluindo o óxido de etileno, ao qual tal conclusão não pode se aplicar, devido a necessidade de contato do agente esterilizante com toda a superfície do material a ser esterilizado.

Quando o óxido de etileno é comparado com outras técnicas de esterilização, é visto que essa técnica se sobressai, podendo ser empregado com segurança em muitos produtos médico-hospitalares, prolongando a vida útil desses materiais (SILVA *et al*., 2005). Entretanto, mesmo o OE sendo considerado bastante vantajoso em relação a outros métodos, encontra-se em processo de desuso devido sua capacidade cancerígena.

CONCLUSÕES:

O óxido de etileno é caracterizado como um método gasoso de grande eficiência considerado válido e seguro para a esterilização de uma ampla gama de materiais médico-hospitalares, como materiais a base de silicone ou plástico, equipamentos com partes plásticas e metálicas e, sobretudo, materiais termossensíveis. Entretanto, esse tipo de esterilização tem demonstrando incompatibilidades com materiais feitos a base de polímeros.

Ao comparar o óxido de etileno a outros métodos, como autoclavação, PPH e VBTF, este por vezes torna-se mais interessante como esterilizante, contudo é coerente que observe-se as características do material que passará pelo processo de esterilização, já que o OE é capaz de formar substâncias tóxicas ao entrar em contato com polímeros.

Por fim, a segurança desse agente é motivo de preocupação já que é responsável pelo desenvolvimento de diversos tipos de cânceres, o que vem contribuindo para o seu desuso e desagrado por parte dos profissionais de saúde, serviços de saúde e empresas.

REFERÊNCIAS:

1. Abdo, N., Rodrigues, D.B., Freitas, M. I. P. In: *APECIH*, **2010**, 166.
2. Archanjo, A. B., Toneto, D. S., Santiliano, F. C., Pereira Júnior, O. S., Almeida, B. R. *PUBVET*, **2012**, *6*, 18.
3. Ascari, R. A., Silva, O. M., Azevedo Júnior, L., Berlet, L. J., Maldaner, C.; Mai, S. *Cidadania em Ação: Revista de Extensão e Cultura*, **2012**, 6.
4. Azevedo, J. C., Cruz, A. S., Pinto, T. J. A. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, **2006**, *42*, 263.
5. Barbosa, L. S., Sartori, M. R. K. Cadernos da Escola de Saúde, **2017**, *5*, 153.
6. Bertani, N. G., Oliveira,T.A.; Alvernaz, S. S. *Rev. Edu. Meio Amb. E Saúde*, **2008**, 237.
7. Bhatnagar, D., Dube, K., Damodaran, V. B., Subramanian, G., Aston, K., Halperin, F., Mao, M., Pricer, K., Murthy, N. S., Kohn, J. *Macromolecular Materials and Engineering*, **2016**, *301*, 1224.
8. Brasil. Ministério da Saúde e Ministério do Trabalho e Emprego. *Portaria Interministerial nº 482, de 16 de abril de 1999*. Dispõe sobre procedimentos de 70 instalações e uso do gás óxido de etileno e suas misturas em unidades de esterilização, **1999**.
9. Camargo, T. C., Feitosa, A. S., Graziano, K. U. *Revista SOBECC*, **2014**, *19*, 200.
10. Carvalho, K. C. S. Estudo comparativo da relação custo-benefício do serviço de esterilização: serviço hospitalar versus empresa terceirizada. 2009. 77 f. Monografia (Pós-Graduação em Hotelaria Hospitalar) – Centro de Excelência em Turismo. Universidade de Brasília, Brasília, **2009**.
11. Costa, J. M. S., Barbosa, M. L. L., Silveira, H. F., Ferreira, T. M. S., Oliveira,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

T. L., Alencar, M. V. O. B., Sousa, J. M. C., Cerqueira, G. S. *Revinter*, **2017**, *10*, 151.

12. Fusco, S. F. B., Spiri, W. *Texto Contexto Enfermagem*, **2014**, *23*, 433.
13. Garcia, C. C. M., Angeli, J. P., Freitas, F. P., Gomes, O. F., Oliveira, T. F., Loureiro, A. P., Di Mascio, P., Medeiros, M. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 9143.
14. Ghosh, M., Godderis, L. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, **2016**, *770*, 91.
15. Goveia, V. R., Pinheiro, S. M. C., Graziano, K. U. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, **2007**, *15*, 376.
16. Gruchinski, D. D. Estudo da influência do substrato na atividade do Bacillus atrophaeus em indicadores biológicos autocontidos utilizados para monitorar sistemas de esterilização a óxido de etileno. 2014. 40 f. Trabalho de Conclusão de curso (Tecnologia em alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, **2014**.
17. Hemminki, K., Mutanen, P., Saloniemi, I., Niemi, M. L., Vainio, H. *Br Med J (Clin Res Ed),* **1982**, *285*, 1463.
18. Huang, C. J. Wu, C. F., Shih, W. C., Chen, M. F., Chen, C. Y., Chien, Y. C., Liou, S. H., Chiang, S. Y., Wu, K. Y. *Toxicology Letters*, **2011**, *202*, 243.
19. Iarc. Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humanas. *Lyon: International Agency for Research on Cancer*, **2012**, 400.
20. Kiminami, H., Krueger A. B., Abe, Y., Yoshino, K., Carpenter, J. F. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2017**, *106*, 1007.
21. Kirman, C.R., Hays, S.M. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, **2017**, *91*, 72.
22. Mendes, G. C., Brandão, T. R. S., Silva, C. L. M. *Woodhead Publising Limited*, **2012**, 96.
23. Moriya, T., Módena, J. L. P. Assepsia e antissepsia: Técnicas de esterilização. *Medicina-Ribeirão Preto*, **2008**, *41*, 273.
24. Münker, T. J. A. G., Visfeijken, S. E. C. M., Mulder, C. S., Vespasiano, V., Becking, A. G., Kleverlaan, C. J., On behalf of the CranioSafe Group. *Journal of The Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, **2018**, *81*, 172.
25. Batista Neto, S., Graziano, K. U., Padoveze, M. C., Kawagoe, J. Y. *Revista Latino-Americana de Emfermagem*, **2010**, *18*, 7.
26. Oliveira, C. O. Esterelização por óxido de etileno: estudo da efetividade esterilizante de misturas não explosivas e compatíveis com a camada de ozônio. 2000. 175 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia e Medicamentos) – Universidade de São Paulo, São Paulo, **2000**.
27. Parod, R. J. Ethylene Oxide. *Encyclopedia of Toxicology*, **2014**, 2.
28. Partanen, T., Monge, P., Wesseling, C. *Acta Médica Costarricense*, **2009**, *51*, 205.
29. Pinto, F. M. G., Araújo, V. G. L., Souza, R. Q., Goveia, V. R., Missali, C. C., Luz, R. A., Graziano, K. U. *Revista Escola Enfermagem* USP, **2012**, *46*, 603.
30. Pinto, T.J.A., Gamoedo, L.H.C. *Pharm. Technol., Ed. Bras.,* **2002**, **6**, 67.
31. Rivero, E., Piñero, S., Ruiz, S. G., Sousa, L., Rodríguez, M., Barrio, E., Delgado, V., Corralejo, B. C., Guevara, H. *Salud de los Trabajadores [online].* **2009**, *17*, 22.
32. Santos, H. C. O. Validação do processo de esterilização por óxido de etileno para determinar o tempo de aeração em frascos enterais. 2010. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, **2010**.
33. Santos, V. S. E., Zilberstein, B., Possari, J. F., Santos, M. A. A., Quintanilho, A. G., Ribeiro Júnior, U. *Surgical laparoscopy, endoscopy & percutaneous techniques*, **2008**, *18*, 468.
34. Silva, M. V., Pinto, T. J. A. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, **2005**, *41*, 189.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

35. Silva, R. M. S., Sandri, A. P. G., Nakano, V., Nishiyama, S. A. B. *Revista Uningá*, **2005**, *4*, 122.

36. Snyder, G. M., Wright, S. B., Smithey, A., Mizrahi, M., Sheppartd, M., Hirsch, E. B., Chuttani, R., Heroux, R., Yassa, D. S., Olafsdottir, L. B., Davis, R. B., Anastasiou, J., Bapat, V., Bidari, K., Pleskow, D. K., Leffler, D., Lane, B., Chen, A. Gold, H. S., Barttley, A. King, A. D., Sawhney, M. S. *Gastroenterology*, **2017**, *153*, 1025.

37. Sousa, C. S., Torres, L. M., Azevedo, M. P. F., Camargo, T. C., Graziano, K. U., Lacerda, R. A., Turrini, R. N. T. *Revista da Escola de Enfermagem da USP*, **2011**, *45*, 1249.

38. Sundin, M. S. Riscos na reutilização de produtos médicos esterilizados em óxido de etileno. 2014. 76 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, **2014**.

39. Sundin, M. S., Machado Neto, V. XXIII *Congresso Brasileiro em Engenharia Biomédica*, **2012**, *3*, 426.

40. USEPA. Evaluation of the Inhalation Carcinogenicity of Ethylene Oxide (CASRN 75-21-8) In Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System (IRIS), **2016**.

41. Wilson, A. J., Nayak, S. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, **2013**, *14*, 427.

42. Xelegati, R., Robazzi, M. L. C. C., Marziale, M. H. P., Haas, V. J. *Revista Latina-Americano de Enfermagem*, **2006**, *14*.

43. Young, G. B. Intoxication. In: STEIN, J. (Ed). Reference Module in Neuroscience and Biobehavioral Psychology. Amesterdã: Elsevier, **2014**.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

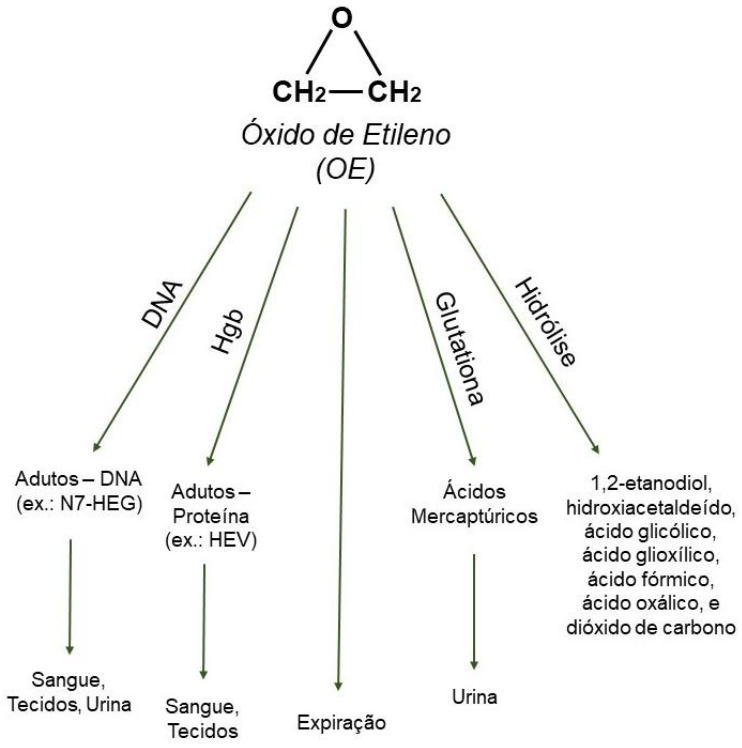


Figura 1. *Metabolismo e biomarcadores para o óxido de etileno*
Fonte: Adaptado de KIRMAN; HAYS, 2017.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO CITRONELAL CONTRA *Candida* NÃO-*albicans* DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA EM PEDIATRIA

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF CITRONELLAL AGAINST *Candida* NON-*albicans* OF PEDIATRIC CLINICAL IMPORTANCE

Ana Luísa de Araújo Lima[1]; Abrahão Alves de Oliveira Filho[2]; Ana Luíza Alves de Lima Pérez[3]; Janiere Pereira de Sousa[4]; Lilian Sousa Pinheiro[5]; Hermes Diniz Neto[6*]; José Pinto de Siqueira Júnior[7] e Edeltrudes de Oliveira Lima[8].

[1,4,5,6,7,8]Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Castelo Branco III, cep 58059-900, João Pessoa- PB, Brasil.
Fone: (83)3216-7347 - Fax: (83)3216-7094.

[2]Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Jatobá, cep 58700-970, Patos - PB, Brasil.
Fone: (83)3511-3000.

[3]Programa de Pós-graduação em Odontologia, Universidade Federal da Paraíba, Castelo Branco III, cep 58059-900, João Pessoa- PB, Brasil.
Fone: (83)3216-7797.

** Autor correspondente*
e-mail: hermes.dn@hotmail.com

Received 17 July 2018; received in revised form 10 August 2018; accepted 13 August 2018

RESUMO

Apesar da sua relação comensal, leveduras de gênero *Candida* podem infectar o ser humano, provocando candidíases que podem variar da forma superficial até a disseminada, ou candidemia. O agente etiológico mais comum destas infecções é *C. albicans*, porém, o perfil destas infecções fúngicas está mudando, onde as espécies não-*albicans* passam a ser os principais patógenos associados a candidíase. A alta taxa de mortalidade associada ao desenvolvimento de resistência contra os antifúngicos padrão são fatores que tornam a candidemia um grave problema de saúde pública mundial, sobretudo em pacientes fragilizados como crianças, especialmente quando existe um agravante como sistema imunológico suprimido. O citronelal, um dos principais fitoconstituintes dos óleos essenciais de diversas plantas, é um potencial candidato a agente antifúngico. Com o objetivo de avaliar o perfil antifúngico deste produto natural, a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração fungicida mínima (CFM) foi determinada contra cepas de *Candida* não-*albicans* provenientes de infecções sanguíneas em pacientes pediátricos. Foi observado que tanto a CIM_{50} quanto a CFM_{50} do citronelal foi de 128 µg/mL, atestando a eficácia antifúngica deste monoterpeno contra cepas de relevância clínica.

Palavras-chave: *Candida* não-*albicans*, candidemia, citronelal, monoterpeno, pediatria.

ABSTRACT

Despite their commensal interaction, *Candida* yeasts may infect the human being, causing candidiasis which can vary from a superficial to a disseminated form, namely candidemia. The most common etiological agent of these infections is *C. albicans*; however, the profile of these fungal infections is changing, where non-*albicans* species becomes the main pathogens associated with candidiasis. The high mortality rate associated with the development of resistance against standard antifungal agents are factors that make candidemia a serious public health problem worldwide, especially in fragile patients as children, especially when there is an aggravating as a suppressed immune system. Citronellal, one of the main phytochemicals of the essential oils of several plants, is a potential candidate for an antifungal agent. In order to evaluate the antifungal profile of this natural product, minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (CFM) were determined against strains of *Candida* non-*albicans* from blood infections in pediatric

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

patients. It was observed that both MIC_{50} and MFC_{50} of citronellal were 128 µg/mL, attesting the antifungal efficacy of this monoterpene against strains of clinical relevance.

Keywords: *Candida* non-*albicans*, candidemia, citronellal, monoterpene, pediatrics.

INTRODUÇÃO

Pela possibilidade de se apresentar tanto de forma superficial, contaminando a mucosa vaginal e oral; quanto de forma sistêmica se disseminando pelos órgãos por via hematogênica ou linfática, a candidíase é uma infecção fúngica de importância clínica global (Peixoto et al., 2014). A forma mais grave da candidíase, a candidemia, é caracterizada pela disseminação das leveduras na corrente sanguínea do hospedeiro, que pode comprometer os sistemas vitais e ocasionar a morte do indivíduo. Em pacientes pediátricos, o caso merece maior atenção, visto que as taxas de mortalidade podem variar de 40% a 60% em pacientes com sistema imunológico deficiente (Steinbach, 2016; Colombo et al., 2014; Kim et al., 2013).

C. albicans é considerada a principal levedura patogênica oportunista, por ser a mais frequentemente isolada em humanos. Entretanto, nas últimas décadas tem sido observado significativo aumento do número de espécies não-*albicans* como os agentes patogênicos nos casos de candidemias, como *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. pelliculosa* e *C. glabrata*, entre outras (Chakrabarti et al., 2015). Notavelmente, estas espécies não-*albicans* tem exibido maiores taxas de resistência aos antifúngicos tradicionais, assinalando a gravidade da emergência destas novas linhagens (Xisto et al., 2017; Oliveira et al., 2014a; Ruiz et al., 2013; Yang et al., 2012).

Considerando as limitações dos antifúngicos existentes atualmente e a resistência apresentada pelos micro-organismos, a busca por novas fontes terapêuticas para o tratamento dessas infecções tem sido constante, buscando fármacos mais eficazes e menos tóxicos para o paciente. Nesse contexto, destaca-se a utilização dos produtos naturais como fonte de substâncias potencialmente ativas (Khan et al. 2012; Morace et al., 2011; Svetaz et al. 2007).

Presente em grandes quantidades nos óleos essenciais de várias plantas do gênero *Cymbopogon*, o citronelal é o monoterpeno responsável pelo aroma característico do capim-limão (Quintans-Júnior et al 2008; Aguiar et al., 2014) e já demonstrou ser uma substância valiosa devido ao seu uso em síntese orgânica e pela sua gama de atividades biológicas (Wu et al., 2016; Lenardão et al., 2007).

Devido a seriedade da candidemia em pacientes pediátricos e o potencial biológico do citronelal, buscou-se avaliar a atividade deste monoterpeno contra cepas de *C.* não-*albicans*, na tentativa de se obter um candidato a agente antifúngico eficaz.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Substâncias

O citronelal, a anfotericina B e o fluconazol foram obtidos na Sigma-Aldrich (São Paulo, SP, Brasil), o dimetilsulfóxido (DMSO) e Tween 80 foram comprados na Labsynth Ltda. (Diadema, SP, Brasil). A emulsão dos produtos utilizada nos ensaios antifúngicos foi preparada no momento da execução dos testes. Os produtos foram solubilizados em DMSO, Tween 80 e água destilada, de forma a se obter uma concentração inicial de 1024 µg/mL. A mistura foi agitada durante 3 minutos em um aparelho Vortex (Fanem® Ltda., Guarulhos, SP, Brasil).

2.2. Meios de cultura

Para testar a atividade biológica dos produtos, foram utilizados o agar Sabouraud dextrose (ASD), adquirido da Difco Laboratories (Detroit, MI, EUA), agar-fubá da HiMédia Laboratories (Mumbai, MH, Índia), e RPMI-1640 com L- glutamina sem bicarbonato de sódio da Sigma-Aldrich (São Paulo, SP, Brasil). Os meios foram preparados e usados de acordo com as instruções dos fabricantes. Os meios foram solubilizados em água destilada e esterilizados em autoclave a 121◦C, 1,0 atm durante 15 min.

2.3. Amostras fúngicas

Os ensaios foram realizados com seis cepas de *Candida* não-*albicans* isoladas de pacientes pediátricos com infecção da corrente sanguinea e duas cepas ATCC como padrão.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Duas cepas clínicas de *Candida tropicalis* (AM-01 e AM-12); duas cepas clínicas de *Candida parapsilosis* (AM-05 e AM-14) e duas cepas clínicas de *Candida pelliculosa* (AM-03 e AM-11). As cepas usadas como padrão foram: *C. tropicalis* ATCC-13803 e *C. parapsilosis* ATCC-22019. Estas cepas pertencem à coleção do laboratório de micologia da UFPB e foram mantidas em ASD a 4°C até a utilização nos testes.

2.4. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A CIM foi determinada pelo método da microdiluição (Eloff, 1998). Culturas de *Candida* spp. foram semeadas em ASD e incubadas por 24-48 horas em temperatura de 37ºC. Colônias dessas culturas foram suspensas em solução de 0,85% NaCl estéril e o inóculo foi padronizado de acordo com a escala 0,5 de McFarland ($1\text{-}5x10^6$ UFC/mL). Em placa de 96 poços foram distribuídos meio líquido de RPMI-1640 e o citronelal em concentrações de 1024 a 0,5 µg/mL. A determinação da CIM foi conduzida com aproximadamente $1\text{-}5x10^5$ UFC/mL de microrganismos em cada poço. As placas foram incubadas à 37°C por 24-48 horas. Em 24-48 horas houve uma observação visual do crescimento fúngico. A CIM foi definida como a menor concentração do monoterpeno que inibiu o crescimento visível da levedura(Hadacek & Greger, 2000; CLSI, 2008). Um controle negativo (sem drogas) foi realizado para confirmar a viabilidade celular fúngica(Eloff, 1998). Um controle de sensibilidade ao Tween 80 e DMSO foi realizado nas mesmas concentrações utilizadas para dissolver os produtos. Houve três independentes experimentos em duplicata em diferentes ocasiões. Os resultados foram expressos como a média aritmética da CIM.

2.5. Determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM)

Para determinar a CFM, 10µL de cada poço sem o crescimento fúngico foi semeado em placas contendo ASD que por sua vez foram incubadas à37°C por 24-48 horas. A CFM foi considerada como a menor concentração cultivada em placa com SDA em que o crescimento foi inferior a 3 UFC(Espinel-Ingroff et al., 2002). Um controle negativo (sem drogas) foi realizado para confirmar a viabilidade celular fúngica(Eloff, 1998). Um controle de sensibilidade ao Tween 80 e DMSO foi realizado nas mesmas concentrações utilizadas para dissolver os produtos. Houve três independentes experimentos em duplicata em diferentes ocasiões. Os resultados foram expressos como a média aritmética da CFM.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos ensaios estão expostos na Tabela 1. O citronelal exibiu valores de CIM variantes entre 64 e 256 µg/mL. A concnetração de 256 µg/mL inibiu o crescimento microbiano de todas as cepas. Já 128 µg/mL inibiu o crescimento de 70% das cepas. A CFM variou entre 128 e 512 µg/mL, sendo a concentração de 128 µg/mL inibitória para 80% das leveduras. A natureza fungicida da substância é sugerida pelo resultado da razão entre a CFM/CIM para a maioria das cepas testadas, com efeito fungistático contra *Candida parapsilosis* (AM-05) e *Candida tropicalis* (AM-01). A CIM da anfotericina B variou entre 0.5 e 1 µg/mL, enquanto para o fluconazol variou entre 0.5 e 8 µg/mL. Os resultados para o ensaio controle não apresentou inibição do crescimento fúngico.

A seriedade das infecções fúngicas reside nas altas taxas de mortalidade associadas, com o recente agravante do surgimento de espécies não-*albicans* com resistentes a uma vasta lista de antifúngicos, o que resulta em esquemas terapêuticos que frequentemente fracassam e o paciente chega ao óbito. Na pediatria médica, esta realidade se torna mais preocupante ao lidar com uma população de pacientes normalmente fragilizadas e vulneráveis até mesmo aos esquemas terapêuticos tradicionais (Motta et al., 2017).

Uma estratégia para se contornar esta situação está na pesquisa de novos agentes antifúngicos nos produtos naturais, especialmente os de origem vegetal, uma vez que estes produtos já apresentaram uma extensa lista das mais diversas atividades farmacológicas. Como componente principal nos óleos essenciais de algumas plantas aromáticas, o monoterpeno citronelal se torna um alvo valioso para estes tipos de pesquisa devido a sua importância bioativa (Quintans-Júnior et al., 2008).

Anteriormente o nosso grupo de pesquisas observou um perfil de atividade antimicrobiana semelhante para o citronelal, onde este fitoconstituinte apresentou CIM de 128 µg/mL contra 90% das cepas de *C. albicans*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

isoladas de infecções sanguíneas de pacientes pediátricos (Lima et al., 2017). Em outros estudos, o citronelal exibiu valores de CIM entre 16 e 512 µg/mL contra várias espécies fúngicas, incluindo *C. albicans* e *C.* não-*albicans*, atestando que os resultados encontrados no atual trabalho estão de acordo com os da literatura (Trindade et al., 2015).

Seguindo os parâmetros de Sartoratto et al. (2004), onde estabelece que um produto com CIM<500 µg/mL possui forte/ótima atividade antimicrobiana, o citronelal pode ser caracterizado como uma substância de ótima atividade antimicrobiana, devido a sua CIM de 128 µg/mL. Na literatura, já foi demonstrado também que o citronelal é ativo contra bactérias e fungos, incluindo o gênero *Candida* (Aguiar et al., 2014; Lopez-Romero et al., 2015; Singh et al., 2016).

Uma substância antifúngica pode exercer um efeito fungicida ou fungistático de acordo com a sua concentração. Conhecer a natureza da atividade de uma certa substância se torna relevante ao considerar que indivíduos imunocompetentes conseguem tratar sua infecção de forma eficaz com o auxílio de uma substância fungistática, porém, em indivíduos imunodebilitados, uma substância fungicida se torna a melhor opção (Monk & Goffeau, 2008).

Uma maneira de analisar se esta substância é fungicida ou fungistática se dá através do cálculo da razão entre a CFM e a CIM observadas como proposto por Hafidh et al. (2011) onde a relação CFM/CIM entre 1/1 e 2/1 indica que a substância possui atividade fungicida, enquanto uma razão CFM/CIM > 2:1 indica que a atividade é de natureza fungistática. Uma vez que a razão CFM/CIM do citronelal para a maioria das cepas foi de 1/1, pode-se considerar que este fitoconstituinte é um agente fungicida, com exceção para as cepas *Candida parapsilosis* (AM-05) e *Candida tropicalis* (AM-01), que se mostraram pouco sensíveis e a substância exerceu apenas efeito fungistático. Este resultado corrobora com os achados anteriores onde o monoterpeno foi fungicida contra cepas de *C. albicans* (Lima et al., 2017).

CONCLUSÕES

Ao atestar a ótima atividade antifúngica do citronelal, este trabalho contribui com a busca de novos agentes terapêuticos para serem usados nos casos de infecções fúngicas em pacientes pediátricos, sobretudo aquelas causadas pelas perigosas espécies não-*albicans*. Contudo, vale salientar que a implementação deste fitoconstituinte na terapêutica clínica ainda está numa fase inicial, sendo necessário ainda compreender os mecanismos de ação envolvidos e determinar a segurança deste fármaco para o paciente.

REFERÊNCIAS

1. Aguiar, R.W.S.; Ootani, M.A.; Ascencio, S.D. et al. *The Scientific World Journal,* **2014**, 2014, 1-8.

2. Bilia, A.R.; Santomauro, F.; Sacco, C. et al. *Evid Based Complement Alternat Med*, **2014**, 2014, 159819.

3. Chakrabarti, A.; Sood, P.; Rudramurthy, S.M. et al. *Intensive Care Med*, **2015,** 41, 285.

4. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protocol M27-A3. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. 3ed. Wayne, PA, USA. 2008.

5. Colombo, A.L.; Guimarães, T.; Sukienik,T. et al. *Intensive Care Med*, **2014**, 40, 1489.

6. Eloff, J.N; *Planta Med*. **1998**, 64, 711 – 713.

7. Espinel-Ingroff, A.; Chaturvedi, V.; Fothergill, A. et al. *J Clin Microbiol,* **2002**, 40, 3776– 3781.

8. Frost, D.J.; Brandt, K.D.; Cugier, D. et al. *J Antibiot,* **1995**, 48, 306–310.

9. Hadacek, F.; Greger, H. *Phytochem Anal*, **2000**, 11, 137–147.

10. Hafidh, R.R.; Abdulamir, A.S.; Vern, L.S. et al. *Open Microbiol J*, **2011**, 5, 96–106.

11. Khan, S.M.A.; Malik, A.; Ahmad, I. *Med Mycol*, **2012**, 50, 33–42.

12. Kim, S.H.; Yoon, Y.K.; Kim, M.J. et al. *J Antimicrob Chemother,* **2013**, 68, 2890–2897.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

13. Lenardao, E.J.; Botteselle, G.V.; de Azambuja, F. et al. *Tetrahedron*, **2007**, 63, 6671-6712.

14. Lima, A.L.; Perez, A.L.; Sousa, J.P. et al. *Latin American Journal Of Pharmacy*, **2017**, 36, 2042-2047

15. Lopez-Romero, J.C.; González-Ríos, H.; Borges, A. et al. *Evid Based Complement Alternat Med,* **2015**, 2015, 795435.

16. Monk, B.C.; Goffeau, A. *Sci,* **2008**, 321, 367-9.

17. Morace G.; Borghi, E.; Iatta, R., et al. *BMC Infect Dis*, **2011**, 11, 130.

18. Motta, F.A.; Dalla-Costa, L.M.; Muro, M.D. et al. *J Pediatr*, **2017**, 93, 165–171.

19. Oliveira VKP, Ruiz LS, Oliveira NAJ, et al.. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, **2014**, 56, 301-5.

20. Peixoto, J.V.; Rocha, M.G.; Nascimento, R.T.L. et al. *Braz J Surg Clin Res*, **2014**, 8, 75–82.

21. Quintans-Júnior, L.J; Souza, T.T.; Leite, B.S. et al. *Phytomedicine*, **2008**, 15, 619–624.

22. Ruiz, L.S.; Khouri, S.; Hahn, R.C. et al. *Mycopathologia*, **2013**, 175, 231-9

23. Sartoratto, A.; Machado, A.L.M.; Delarmelina, C. et al. *Braz J Microbiol*, **2004**, 35, 275-280.

24. Simões, E.R.; Santos, E.A.; de-Abreu, M.C. et al. *J Intercult Ethnopharmacol*, **2015**, 4, 256-63.

25. Singh, S.. Zeeshan, F.; Hameed, S.; *Rev Soc Bras Med Trop*, **2016**, 49, 465-472.

26. Steinbach, W.J.; *J Fungi*, **2016**, 2, 5.

27. Svetaz, L.; Aguero, M.B.; Alvarez, S. et al. *Planta Med*, **2007**, 73, 1074-80.

28. Trindade, L.A.; de-Araújo-Oliveira, J.; de-Castro, R.D. et al. *Clin Oral Invest*, **2015**, 19, 2223.

29. Wu, Y.; Qiuli, O.Y.; Nengguo, T.; *J Food Sci Technol*, **2016**, 53, 3853–3858.

30. Xisto, M.I.D.S.; Caramalho, R.D.F.; Rocha, D.A.S. et al. *J Antimicrob Chemother,* **2017***,* 72, 988–992.

31. Yang, Y.L.; Lin, C.C.; Chang, T.P. et al. *Plos One*, **2012**, 7, e34609–e34609.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 1: *CIM, CFM, CFM/CIM e efeito do citronelal e CIM da anfotericina B e fluconazol contra cepas das espécies de Candida não-albicans.*

Leveduras	Citronelal (µg/mL)				Anf (µg/mL)	Flc (µg/mL)	Controle[a]
	CIM	CFM	$\frac{\text{CFM}}{\text{CIM}}$	Efeito	CIM	CIM	
C. tropicalis							
ATCC-13803	128	128	1:1	Fungicida	0.5	0.5	+
AM-01	128	512	4:1	Fungistático	1	1	+
AM-12	128	128	1:1	Fungicida	0.5	0.5	+
C. parapsilosis							
ATCC 22019	128	128	1:1	Fungicida	0.5	0.5	+
AM-05	128	512	4:1	Fungistático	1	1	+
AM-14	256	512	2:1	Fungicida	0.5	4	+
C. pelliculosa							
AM-03	64	128	2:1	Fungicida	1	8	+
AM-11	64	128	2:1	Fungicida	1	8	+

Legenda: CIM, concentração inibitória mínima; CFM, concentração inibitória mínima; Anf, anfotericina B; Flc, fluconazol; [a] crescimento fúngico em RPMI-1640, DMSO (5%) e Tween 80 (2%), sem agente antifúngico.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

COMPÓSITOS DE PEAD/DIATOMITA MODIFICADA COM GRUPOS METILSILANO: ANÁLISE DAS PROPRIEDADES TÉRMICAS E MECÂNICAS

HDPE/METHYLSILANE MODIFIED DIATOMITE COMPOSITES: ANALYSIS OF THERMAL AND MECHANICAL PROPERTIES

FENSTERSEIFER, Camila Rivaldo[1]; BRAMBILLA, Rodrigo[2*];

[1,2] Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Escola Politécnica, Av Unisinos, 950, cep 93020-190, São Leopoldo – RS, Brasil.

[2]Braskem S.A., Inovação e Tecnologia, Área de Catálise, Via Oeste, Lote 5, cep 95853-000, Triunfo – RS, Brasil. (fone: +55 51 37218140)

** Autor correspondente*
e-mail: rodrigo.brambilla@braskem.com

Received 01 August 2018; received in revised form 30 August 2018; accepted 22 September 2018

RESUMO

Devido à grande demanda de novos materiais para as aplicações atuais do mercado, existem vários tipos de materiais compósitos. Um exemplo, é o polietileno de alta densidade (PEAD) reforçado com partículas de sílica. A diatomita é um tipo de sílica natural, comumente utilizada em meios filtrantes. No presente trabalho, a diatomita foi organofuncionalizada com o metiltrietóxisilano (C1) e utilizada, em teores mássicos de 2,0 e 5,0%, na preparação de compósitos com matriz de PEAD, através do método de extrusão. A diatomita e os compósitos foram caracterizados por diferentes técnicas complementares de caracterização, a saber: espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), porosimetria de adsorção-dessorção de N_2, granulometria por difração a laser, análise termogravimétrica (TGA), microscopia eletrônica de varredura (SEM) e calorimetria diferencial exploratória (DSC). Os compósitos foram avaliados em termos de propriedades mecânicas por: análise dinâmico-mecânica (DMTA), ensaio de impacto Izod e ensaios de resistência à flexão e à tração. O espectro de FTIR da diatomita organofuncionalizada apresentou bandas características de grupos metila, comprovando a eficiência da modificação de superfície. A adição de 5,0 % de diatomita no PEAD resultou em um aumento de 8,0 °C na estabilidade térmica, na cristalinidade (72 para 78 %) e em, aproximadamente, 4,0 % no módulo de armazenamento (G'), em comparação ao PEAD puro. As análises de SEM evidenciaram a presença de aglomerados de diatomita na matriz de PEAD. A resistência ao impacto Izod dos compósitos para esse compósito foi de 50 J/m, metade do valor medido para o PEAD puro. As propriedades de resistência à tração não foram influenciadas pela presença de diatomita no PEAD.

Palavras-chave*: polietileno, diatomácea, sílica, organofuncionalização, organosilano.*

ABSTRACT

According to IUPAC, the composites are multicomponent materials comprising multiple, different (non-gaseous) phase domains in which at least one type of phase domain is a continuous phase.High density polyethylene (HDPE) reinforced with silica particles is an example of a composite material. Diatomite is a natural silica commonly used in filter media.In the present work, the diatomite was organofunctionalized with methyltriethoxysilane (C1) and then used in the preparation of HDPE/diatomite composites with diatomite content of 2.0 and 5.0 wt%. The composites were evaluated in terms of mechanical properties by dynamic-mechanical analysis (DMTA), Izod impact test and flexural strength and tensile strength tests.TheFourier transform infrared spectrum (FTIR) of the organofunctionalized diatomite presented bands characteristic of methyl groups, proving the efficiency of the surface modification.The addition of 5.0% diatomite in HDPE resulted in an increase of 8.0 °C in thermal stability, crystallinity (72 to 78%) and in approximately 4.0% in the storage modulus (G '), compared to pure HDPE.SEM analyzes showed the presence of diatomite agglomerates in the HDPE matrix. The Izod impact strength of the composites for this composite was 50 J / m, half of that observed for pure HDPE. The properties of tensile strength were not influenced by the presence of diatomite in HDPE.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Keywords: *polyethylene, diatomaceous, silica, organofunctionalization, organosilane.*

INTRODUÇÃO

Os materiais plásticos, devido ao seu alto desempenho em relação a outros materiais poliméricos, vêm sendo cada vez mais utilizados na sociedade atual, sendo aplicados em diversos segmentos, como na produção de embalagens, materiais de construção civil, aparelhos médicos,dentre tantas outras aplicações. (ABIPLAST, 2015). De acordo com a ABIPLAST (2015) a produção de plástico no mundo é de aproximadamente 260 milhões de toneladas.

Mesmo sendo utilizado em diversos segmentos, os polímeros termoplásticos podem ter suas propriedades modificadas através da junção com outros materiais, e com isso ampliar ainda mais as suas aplicações. (LIMA, 2007). Smith e Hashemi (2012, p. 8) definem compósitos como: "[...] dois ou mais materiais integrados de modo a formar um novo material. " Os materiais compósitos são formados pela matriz e por um material de reforço, usualmente chamado de carga. (SMITH e HASHEMI, 2012).

Existem vários tipos de materiais compósitos, porém os que utilizam como matriz os polímeros possuem vantagem devido seu baixo custo e facilidade relativa dos processos de fabricação. (VENTURA, 2009). Neste contexto, um exemplo de material compósito é o polietileno de alta densidade (PEAD) utilizando a sílica como reforço.

A sílica utilizada como material de reforço é de origem sintética, sendo assim, é um material que contém substâncias desenvolvidas em laboratório e não extraídas diretamente da natureza. Uma alternativa, seria utilizar uma sílica natural, como a diatomita. Segundo Luz e Lins (2005, p.399 apud BREESE, 1994): "A diatomita é uma matéria-prima mineral de origem sedimentar e biogênica, constituída a partir do acúmulo de carapaças de algas diatomáceas que foram se fossilizando, desde o período pré-cambriano [...]".

A diatomita vem sendo utilizada na indústria em diversas áreas, como auxiliar de filtração, como carga funcional, como adsorvente, abrasivo ou isolante. (LUZ e LINS, 2005).

Embora sejam encontrados vários estudos na literatura envolvendo a utilização de sílicas como carga para o polietileno de alta densidade(PEAD), a diatomita ainda foi muito pouco explorada neste cenário.

Dessa forma, o presente estudo investigou as potencialidades e limitações da utilização de diatomita organofuncionalizada com grupos metilsilano como agente de reforço para o polietileno de alta densidade (PEAD).

O presente trabalho teve por objetivos específicos: (i) avaliar o efeito da modificação com grupos metilsilano (C1) nas propriedades superficiais, texturais e morfológicas da diatomita; (ii) comparar as propriedades térmicas e mecânicas dos compósitos de PEAD-diatomita com as propriedades do PEAD puro e (iii) correlacionar o teor de diatomita (2,0 e 5,0 %) com as propriedades térmicas e mecânicas dos compósitos de PEAD/diatomita-C1 resultantes.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiais e reagentes

Para a realização do trabalho foram utilizados os seguintes reagentes e solventes:

-Diatomita (Synth, utilizada após tratamento térmico e modificação com grupos metilsilano);
-Metiltrietoxisilano (Sigma-Aldrich, 95 % de pureza, utilizado sem purificação prévia);
-Hexano (Sigma-Aldrich, 95 % de pureza, utilizado sem purificação prévia);
-Polietileno de alta densidade na forma de pó (Braskem, utilizado sem purificação prévia);
-Brometo de potássio (Sigma-Aldrich, grau FTIR, seco à 200 °C por 8h).

Organofuncionalização da diatomita

Primeiramente, foi realizado um tratamento térmico na diatomita com o objetivo de eliminar a água adsorvida, e formar grupos silanóis (OH) isolados, que são mais reativos, facilitando a ligação com o organosilano na reação de modificação. (BERGNA; ROBERTS, 2006). Para este procedimento, a diatomita foi transferida para um cadinho e em seguida colocada em um forno mufla a 200 ºC durante 12h sob fluxo constante de nitrogênio. O resfriamento da diatomita foi realizado em um dessecador.

Após o tratamento térmico, foi realizadaa modificação da diatomita através do método de enxerto (*grafting*), conforme

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

adaptação do procedimento descrito por Zhuravlev (2000) e Brambilla *et al*. (2007). Em uma preparação típica, 200 g de diatomita foi colocada em um balão *Schlenk* através de uma câmara seca (para se evitar o contato com o ar atmosférico), e em seguida o balão foi transportado para uma capela. Em seguida, foi adicionado hexano no balão, através de uma cânula, de forma a propiciar total suspensão da diatomita nesse solvente orgânico. Após a adição de hexano, 30 mL de metiltrietoxisilano (200 mmol) foi adicionado, através de uma seringa de vidro, ao balão contendo a diatomita suspensa. A quantidade desse reagente foi escolhida de acordo com o teor de organosilano comumente utilizado em sílicas organofuncionalizadas comerciais (1,0 mmol de silano/g de sílica). A adição do organosilano foi realizada na temperatura de 25ºC, sob agitação e fluxo de nitrogênio constantes. A reação foi mantida sob agitação, mantendo o balão fechado, por um período de 6h. Por último, o solvente foi removido sob fluxo de nitrogênio e a secagem completa da diatomita organofuncionalizada foi realizada em estufa a 120 ºC por 12 h.

Para facilitar a discussão dos resultados, a diatomita organofuncionalizada foi denominada de diatomita-C1.

Caracterização da diatomita e diatomita-C1

A diatomita *in natura* e a diatomita-C1 foram caracterizadas por uma série de técnicas complementares com os objetivos de avaliar suas propriedades de superfície, texturais e morfológicas. As técnicas de caracterização utilizadas foram: espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), porosimetria de adsorção-dessorção de N_2, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e granulometria por difração a laser. Os procedimentos, os equipamentos e condições de análise por cada uma dessas técnicas são descritos a seguir.

Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

As análises no modo transmissão foram realizadas em um espectrofotômetro FTIR da marca Thermo Nicolet, modelo Nexus 470. As amostras foram preparadas em formato de pastilhas através da diluição com brometo de potássio anidro, e por posterior prensagem da mistura. Os espectros foram coletados com 32 varreduras, e com uma resolução de 2,0 cm^{-1}.

Porosimetria de Adsorção-Dessorção de N2

Esta análise foi realizada com o objetivo de determinar a área específica, o volume médio de poros, o diâmetro médio de poros e a constante de BET das amostras de diatomita in natura e diatomita-C1. As análises de porosimetria foram realizadas em um equipamento da marca Micromeritics, modelo Gemini VII 2390. As amostras foram pré-tratadas sob vácuo (10-1 bar) a uma temperatura de 80°C durante 48 h. As análises foram realizadas com adsorção de nitrogênio. Com os resultados levantados foi feito uma isoterma de adsorção que demostra a relação entre a quantidade de gás que foi adsorvida ou dessorvida pelo sólido, em relação à pressão de trabalho e à pressão do gás a temperatura constante. (TEIXEIRA; COUTINHO; GOMES, 2001). As áreas específicas foram determinadas através do método de Brunauer-Emmett-Teller (BET) e os diâmetros médio de poros foram calculados pelo método de Barret-Joyner-Halenda (BJH).

Microscopia eletrônica de varredura (SEM)

As análises de SEM foram realizadas em um microscópio de bancada da marca HITACHI, modelo TM-1000. A voltagem de aceleração utilizada foi de 15 kV. Para a realização das análises, as amostras foram fixadas na forma de pó sobre uma fita de carbono em um porta amostras (*stub)* de alumínio e revestidas com ouro. Foram realizadas as imagens das amostras com magnificações de 250, 500, 1500 e 3000 vezes.

Granulometria por difração a laser

A granulometria por difração a laser foi realizada em um analisador da marca Malvern, modelo Mastersizer 2000, acoplado a um acessório Hydro 2000 UM (A). Para as análises, as amostras foram diluídas em isoparafina a uma concentração em torno de 0,10 % (v/v).

Preparação doscompósitos poliméricos de PEAD/diatomita-C1

O polietileno de alta densidade utilizado como matriz polimérica no presente trabalho possui o 1-buteno como comonômero, foi preparado industrialmente com o uso de um catalisador do tipo Ziegler-Natta, e contém aditivos antioxidantes e estabilizantes.

Nesse estudo, foram preparadas amostras de compósitos de PEAD-diatomita-C1,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

denominados de PE-D2 e PE-D5, contendo 2 % e 5 % (m/m) de diatomita-C1, respectivamente.

A pesagem da diatomita-C1 e do PEAD foi realizada em balança semi-analítica e a mistura dos componentes foi realizada de forma manual. Após mistura, as amostras foram extrudadas em uma extrusora da marca AX Plásticos - Mini Extrusora AX DR 16:40, dupla rosca de aço SAE 8550.

Foram realizados testes iniciais com PEAD puro para determinar qual a melhor relação entre pressão de massa, rotação do dosador e da rosca para a extrusão das amostras. A pressão de massa utilizada foi de 15 bar, e as rotações do dosador e da rosca foram de 4 rpm e 40 rpm, respectivamente. As temperaturas das zonas de aquecimento podem ser observadas na Tabela 1.

Tabela 1. Temperaturas das diferentes zonas de aquecimento da extrusora que foram utilizadas na preparação dos compósitos

Zona de aquecimento da extrusora	Temperatura (°C)
Zona 1	90
Zona 2	100
Zona 3	130
Zona 4	150
Zona 5	170
Zona 6	170
Zona 7	175
Zona 8	175
Zona 9	175

Foram extrudadas as amostras do compósito PEAD/diatomita contendo 2% e 5% de diatomita-C1. Para fins comparativos, foi também extrudada uma amostra de PEAD sem a adição de diatomita-C1, que para facilitar a discussão, foi denominada de PE.

Caracterização dos compósitos poliméricos de PEAD/diatomita-C1

Para avaliar a influência da adição da diatomita-C1 sobre as propriedades térmicas e mecânicas dos materiais compósitos com matriz de polietileno de alta densidade, foram realizadas algumas análises. As técnicas de caracterização e os ensaios de propriedades utilizados foram: microscopia eletrônica de varredura (MEV), análise termogravimétrica (TGA), calorimetria diferencial exploratória (DSC), análise dinâmico-mecânica (DMTA), ensaio de resistência ao impacto Izod, ensaio de módulo de flexão e análise de resistência à tração.

Microscopia eletrônica de varredura (SEM)

As análises foram realizadas em um microscópio eletrônico de varredura JEOL, modelo JSM 6060 operando em 15 kV.

Um pellet de cada amostra foi cortado de forma a expor a superfície interna, sem alterar as características morfológicas do material. Posteriormente, cada amostra foi fixada em uma fita de carbono sobre um porta amostras (*stub)* e metalizada com ouro. Após estes procedimentos, foram realizadas as imagens das amostras com magnificação de 500 vezes.

Análise termogravimétrica (TGA)

As análises termogravimétricas foram realizadas em um analisador termogravimétrico TGA Q50 (TA Instruments). Cada amostra foi pesada em um cadinho de platina, e inserida no porta amostras do equipamento, o qual transportou a amostra até a célula de carga com posterior fechamento do forno. As amostras foram aquecidas da temperatura ambiente até 1000°C em uma taxa de 20°C/min sob atmosfera inerte.

Calorimetria diferencial exploratória (DSC)

A análise foi realizada conforme ASTM D3418. As amostras foram pesadas e colocadas em um recipiente. Em seguida, as amostras foram colocadas na célula do calorímetro da marca TA Instruments, modelo Q-100 e foram aquecidas até 200°C, resfriadas até -20°C, e aquecidas novamente até 200°C.
Com os dados obtidos na análise, foram plotadas as curvas de temperatura de fusão da segunda varredura (Tm2) e de temperatura de cristalização (Tc). Os resultados de cristalinidade foram calculados através da Equação 1, conforme a literatura apresentada por Hummel (1996), onde ΔH_f é a variação de entalpia da amostra, ΔH_0 é a variaçao de entalpia de fusão do polietileno 100% cristalino.

$$X_c(\%) = \frac{\Delta H_f}{\Delta H_0} \times 100\ \% \quad (Eq.\ 1)$$

A cristalinidade calculada através da fórmula acima foi corrigida de acordo com o

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

percentual de diatomita adicionado na preparação do compósito. Essa correção é realizada através da divisão da X_c pela fração mássica de PEAD no compósito.

Análise dinâmico-mecânica (DMTA)

Foram preparados corpos de prova através da moldagem por compressão em uma prensa pneumática da marca Carver, com espessura de 2 mm, 38 mm de comprimento e 13 mm de largura. As análises foram realizadas em um analisador DMA da marca TA Instruments, modelo Q800, em modo único cantilever a uma frequência de 1Hz e na faixa de temperatura entre -140ºC a 100ºC. A taxa de aquecimento utilizada foi de 2 ºC/minuto.

Ensaio de resistência ao impacto Izod

Para a análise, foram preparados 5 corpos de prova de cada amostra através da moldagem por compressão em uma prensa pneumática da marca Carver, com espessura de 3 mm, 13 mm de comprimento e 63,7 mm de largura. Os corpos de prova foram climatizados por 40 h a temperatura de 23 ± 2ºC, antes da realização do ensaio. A análise de Impacto Izod foi realizada de acordo com a norma ASTM D256, no equipamento Resil Impactor da marca CEAST. O corpo de prova foi fixado verticalmente no suporte do equipamento e um pêndulo de 4 J foi liberado de uma altura pré-definida de forma a atingir o corpo de prova perpendicularmente.

Ensaio de resistência à flexão

Para a análise, foram preparados 5 corpos de prova através da moldagem por compressão em uma prensa pneumática da marca Carver, com espessura de 3 mm, 13 mm de comprimento e 126 mm de largura. Os corpos de prova foram climatizados por 40h a temperatura de 23 ± 2ºC.

O ensaio de módulo de flexão foi realizado de acordo com a norma ASTM D790, no dinamômetro da marca Instron, modelo 5581. Para realização do ensaio, o corpo de prova foi submetido a uma deformação com uma taxa pré-definida de 13 mm/minuto. Durante a flexão, o corpo de prova foi submetido a esforços de tração e compressão. A resposta a cada deformação foi indicada por uma célula de carga, e o resultado foi calculado conforme descrito na norma ASTM D790 (2015).

Ensaio de resistência à tração

Para a análise, foram preparados 5 corpos de prova através da moldagem por compressão em uma prensa pneumática da marca Carver, com espessura de 3 mm, 13 mm de comprimento e 126 mm de largura. Os corpos de prova foram climatizados por 40h a temperatura de 23 ± 2ºC.

O ensaio foi realizado segundo norma ASTM D638, em uma máquina de ensaio de tração Instron 5581, onde os corpos de prova foram submetidos a uma força continuamente crescente até se observar a ruptura.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme a proposta da metodologia, os resultados e discussão serão divididos em duas partes: caracterização da diatomita e propriedades dos compósitos PEAD/diatomita-C1.

Caracterização da diatomita

As diatomitas podem ser classificadas como sílicas naturais biogênicas. As diatomitas possuem característica hidrofílica devido à presença de grupos silanóis na superfície, que tornam esse agente de reforço incompatível com a matriz de PEAD, que é essencialmente hidrofóbica. Com o objetivo de viabilizar a compatibilização entre a diatomita e a matriz de PEAD, foi realizada a organofuncionalização da diatomita com o reagente metiltrietoxisilano. De maneira a facilitar a discussão dos resultados, a diatomita organofuncionalizada será denominada de diatomita-C1. Considerando que não foi fornecida pelo fabricante informações sobre as características da diatomita, a mesma foi caracterizada através de um conjunto de técnicas complementares de análise, de modo a se obter informações sobre a natureza das espécies de superfície, propriedades texturais e morfológicas do material. As mesmas caracterizações foram realizadas para a diatomita organofuncionalizada.

Natureza das espécies de superfície

A caracterização estrutural da diatomita *in natura* e organofuncionalizada foi realizada através da técnica de Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), no modo de transmissão. Os espectros de FTIR para esses materiais são apresentados

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

na Figura 1.

A interpretação dos espectros foi realizada com base nas literaturas de Lin-Vien *et al.* (1991) e Ramos *et al.* (1998).O espectro da diatomita in natura apresenta bandas centradas em 796 e 1100 cm^{-1}, que podem ser atribuídas respectivamente aos estiramentos simétricos ν_s(Si-O) e assimétricos ν_{as}(Si-O) dos grupos siloxano (Si-O-Si). As mesmas bandas são observadas no espectro da diatomita organofuncionalizada com metiltrietoxisilano. A banda larga centrada em 3441 cm^{-1}, observada no espectro da diatomita in natura, é referente ao estiramento ν(O-H) dos grupos silanóis (≡Si-OH) vicinais e geminais e de água adsorvida. A banda em 3740 cm^{-1} pode ser atribuída ao estiramento ν(O-H) dos grupos silanóis isolados. O espectro da diatomita in natura apresenta também bandas centradas em 2961, 2922 e 2851 cm^{-1}, atribuídas ao estiramento assimétrico ν_{as}(C-H) de grupos metila (CH_3), estiramento assimétrico ν_{as}(C-H) e simétrico ν_s(C-H) de grupos etila (CH_2), respectivamente. A presença dessas bandas evidencia a existência de matéria orgânica no material in natura.

Após a organofuncionalização, ocorre a intensificação e o deslocamento das bandas atribuídas aos estiramentos C-H. Além disso, ocorre o aparecimento de bandas em 851 e 1261 cm^{-1} referentes às vibrações Si-C e C-H (de grupos -OCH_2-). Essa alteração no espectro de infravermelho ocorre devido à presença de grupos metila e etóxido (O-CH_2-CH_3) do metiltrietoxisilano na superfície da diatomita. Cabe salientar que a reação de organofuncionalização ocorre pela substituição do hidrogênio dos grupos silanóis da diatomita pelo silício das moléculas do reagente metiltrietoxisilano com a liberação de etanol, que é removido no processo de secagem. (VANSANT; VOORT; VRANCKEN, 1995).

Hidrofobicidade da superfície

De maneira a investigar se a organofuncionalização da diatomita resulta em efetiva redução da polaridade da superfície (aumento da hidrofobicidade), foi realizado um ensaio de dispersão do pó de diatomita em água, cujo resultado é apresentado na Figura 2.

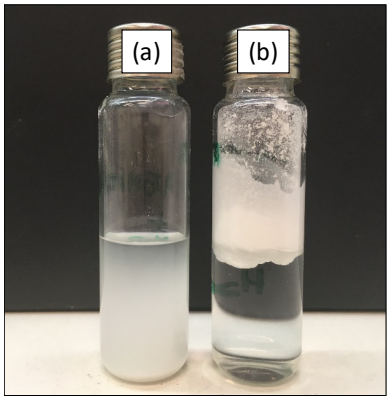


Figura 2. Ensaio de hidrofobicidade: (a) diatomita in natura com água e (b)diatomita-C1 com água

Através da Figura 2, é possível observar que a diatomita *in natura* é dispersada em água, evidenciando seu comportamento hidrofílico. Por outro lado, a diatomita-C1 não é dispersada em água. Esse resultado mostra que a organofuncionalização da diatomita com metiltrimetoxisilano aumenta o caráter hidrofóbico do material, reduzindo, portanto, a polaridade da superfície. Esse comportamento é devido à presença dos grupos CH_3 (apolares) e ao menor teor de grupos silanóis (polares) na superfície da diatomita-C1, como mostrado pelos resultados de FTIR.

Propriedades texturais

De modo a investigar as propriedades texturais (área específica, diâmetro e volume médio de poros, constante de BET) da diatomita *in natura* e diatomita-C1, esses materiais foram caracterizados pela técnica de porosimetria de adsorção-dessorção de N_2, cuja isoterma típica é apresentada na Figura 3.

A isoterma de adsorção-dessorção de N_2 da Figura 3 é do tipo II (Classificação IUPAC), característica de materiais não porosos ou macroporosos, como é o caso da diatomita. Resultado similar foi observado para a diatomita modificada com grupos metilsilano (C1).

Os resultados de área específica (S_{BET}), volume médio de poros (V_p), diâmetro médio de poros (D_p) e constante de BET (C) para a diatomita *in natura* e diatomita-C1 são apresentados na Tabela 2.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 2. Propriedades texturais da diatomita in natura e da diatomita-C1, obtidas por porosimetria de adsorção-dessorção de N_2

Sistema	S_{BET} (m^2 g^{-1})	Vp (cm^3/g)	Dp (Å)	C
Diatomita *in natura*	1,36	0,00179	122	99
Diatomita-C1	0,48	0,00044	97	25

De acordo com a Tabela 2, a diatomita *in natura* apresentou área específica de BET de 1,36 m^2 g^{-1}. Esse valor de S_{BET} é da mesma ordem de grandeza daquele observado por Tsai et al. (2006) que é de 3,81 m^2 g^{-1}. Entretanto, a área específica BET da diatomita é consideravelmente inferior àquela observada para sílicas sintéticas comerciais que é de 100-900 m^2/g. (ZHURAVLEV, 2000). Após a organofuncionalização com metiltrimetoxisilano, observa-se uma redução da $S_{BET.}$ Esse comportamento foi descrito por Ambrozewicz et al. (2013), e pode ser atribuído ao recobrimento parcial dos sítios de adsorção na superfície da diatomita pelas moléculas do organosilano. Pode-se observar também uma redução no volume e diâmetro médio de poros, evidenciando um preenchimento dos poros pelas moléculas do organosilano.

A constante C de BET apresentou um decréscimo significativo após a modificação da diatomita com grupos metilsilano, indicando que a interação entre o sólido e o N_2 diminuiu com o recobrimento parcial da superfície pelas moléculas do organosilano. De acordo com Alloul *et al.* (2016), a constante pode ser utilizada como uma medida da polaridade de superfícies e quanto mais elevado for o seu valor, maior será a polaridade do material. Portanto, o decréscimo do valor de C com a modificação da diatomita pode ser atribuído à redução da polaridade da superfície do material, como já discutido no ensaio de hidrofobicidade.

Distribuição de tamanho de partículas

As curvas de distribuição de tamanho de partículas da diatomita *in natura* e diatomita-C1, obtidas pela na técnica de granulometria de difração a laser são apresentadas na Figura 4.

De acordo com a Figura 4, as amostras apresentam partículas com diâmetro entre 1 e 100 µm, aproximadamente. O diâmetro médio de partículas (d50) da diatomita *in natura* foi de 31, 2 µm. Já para a diatomita-C1 o diâmetro médio de partículas foi de 20,5 µm. Cabe salientar que o diâmetro médio de partícula da diatomita-C1, material escolhido para a investigação do presente trabalho, é relativamente maior, se comparado a outros trabalhos que utilizaram sílica como carga em matriz polimérica de PEAD. Ramos (2017) utilizou uma sílica como diâmetro médio de partícula de 5,65 µm. Dorigato, D'Amato e Pegoretti (2012) usaram nanoparticulas de sílicas. Gao, Liu e Wei (2011) utilizaram sílicas com partículas da ordem de 61 µm.

Além disso, o diâmetro médio de partículas da diatomita *in natura* foi superior ao da organofuncionalizada, indicando que a diatomita tende a aglomeração, que é reduzida pela modificação da superfície com grupos metilsilano. Resultado similar foi observado por Brambilla *et al.* (2007) em um estudo envolvendo a modificação de sílicas pirogênicas com grupos octadecilsilano. Entretanto, não se pode descartar que o processo de agitação durante a etapa de modificação da diatomita tenha resultado em quebra de algumas partículas.

Morfologia das partículas

Com o objetivo de avaliar a morfologia das partículas da diatomita *in natura* e diatomita-C1, esses materiais foram caracterizados pela técnica de microscopia eletrônica de varredura (SEM), cujas micrografias são apresentadas na Figura 5.

Através das micrografias da Figura 5, pode-se observar que uma grande parte das partículas de diatomita apresenta forma irregular. Pode-se observar também algumas partículas com morfologia característica de diatomita do tipo circular. Além disso, não há modificação da morfologia das partículas de diatomita com a organofuncionalização, indicando que não ocorreu a formação de agregados, oriundos da hidrólise e condensação do metiltrimetoxisilano, mas sim recobrimento das partículas pelas moléculas desse organosilano. Ademais, foi possível observar também alguns macroporos na superfície da partícula de morfologia circular, característica que justifica o fato das diatomitas serem comumente utilizadas em processos de filtração.

Avaliação das propriedades morfológicas, térmicas e mecânicas dos compósitosde PEAD/diatomita-C1

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

No presente trabalho, compósitos de PEAD/diatomita-C1, contendo 2 e 5 % (m/m) de diatomita-C1, foram preparados através do método de extrusão, caracterizados e avaliados por uma série de técnicas e ensaios de propriedades, de maneira a avaliar suas propriedades morfológicas, térmicas e mecânicas.

De maneira a facilitar a discussão dos resultados, as amostras de compósitos, contendo 2 e 5 % de diatomita-C1, foram denominadas de PE-D2 e PE-D5, respectivamente. O polietileno de alta densidade (PEAD) puro foi denominado de PE.

As análises e interpretações referentes a caracterização desses compósitos serão apresentadas a seguir.

Caracterização morfológica

Com o objetivo de avaliar a morfologia dos compósitos PEAD/diatomita-C1 e avaliar a distribuição da diatomita nesses materiais, foram realizadas análises de microscopia eletrônica de varredura. A Figura 6 apresenta as micrografias de microscopia eletrônica de varredura (SEM) do PEAD puro e dos materiais compósitos.

As micrografias de SEM dos compósitos de PEAD/diatomita-C1 revelam a presença de dois domínios distintos, que estão indicados no detalhe na Figura 6. Um dos domínios é predominantemente formado pela matriz de PEAD e o outro é constituído de aglomerados de partículas de diatomita-C1. A existência desses dois domínios sugere uma distribuição não uniforme da diatomita-C1 nos materiais compósitos, que pode ser resultante de uma fraca interação entre as partículas de tamanho micrométrico de diatomita-C1 e a matriz de PEAD.

Propriedades térmicas

As curvas termogravimétricas (TGA) e de termogravimetria derivada (DTG) do PEAD puro e dos compósitos de PEAD/diatomita-C1 são apresentadas na Figura 7 e Figura 8 respectivamente, na qual podem ser obtidos resultados referentes à estabilidade térmica dos materiais.

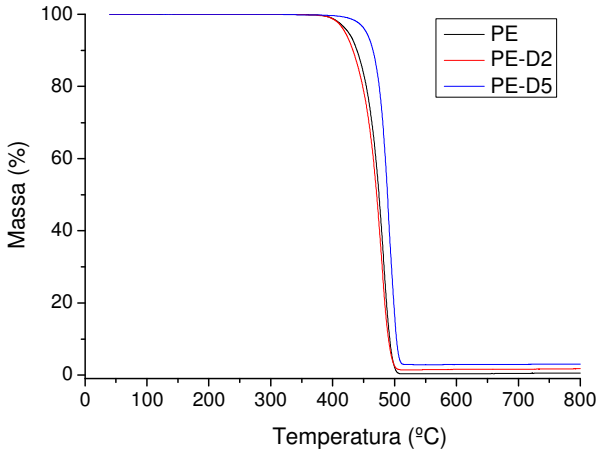


Figura 7. Curvas de TGA do PEAD e dos compósitos de PEAD/diatomita-C1

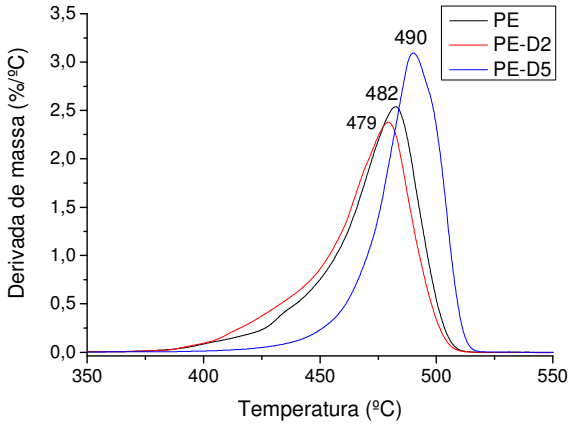


Figura 8. Curvas de DTG do PEAD e dos compósitos de PEAD/diatomita-C1

Através da análise da Figura 7, pode-se observar apenas um estágio de perda de massa para todos os materiais. Pode-se observar também que a diatomita-C1 influencia a estabilidade térmica da matriz de PEAD. Esse efeito é mais destacado para o compósito PE-D5, com maior teor de diatomita-C1, pois sua curva de TGA apresenta-se deslocada para temperaturas maiores em comparação ao PEAD puro. Em relação aos resíduos na temperatura de 800 °C, o PEAD puro apresentou um resíduo de 0,82 %. Como esperado, o aumento da percentagem mássica de diatomita no compósito resultou em um maior teor de resíduo na temperatura de 800 °C. Os compósitos PE-D2 e PE-D5 apresentaram resíduos de 1,9 e 3,1 %, respectivamente.

De acordo com a Figura 8, o PEAD puro apresentou uma temperatura máxima de perda de 482 °C, que está de acordo com o resultado reportado por Chrissafis *et al.* (2009). Além disso, a curva de DTG da Figura 8 mostra que a adição de 5,0 % de diatomita-C1 ao PEAD

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

resulta em um aumento de 8,0 °C na temperatura máxima de perda.

De acordo com o DNPM (2017), a diatomita é um bom isolante térmico. Dorigato, D'Amato e Pegoretti (2012,) em estudos utilizando sílicas comerciais em matriz de polietileno, sugerem que o aumento da estabilidade térmica está associado ao fato das partículas de sílica atuarem como isolantes térmicos e limitarem a difusão de oxigênio na matriz polimérica, retardando o processo termo-oxidativo.

De maneira a investigar o efeito da presença da diatomita-C1 na temperatura de fusão (T_m), temperatura de cristalização (T_c) e cristalinidade (X_C) do PEAD, os materiais foram caracterizados pela técnica de calorimetria diferencial exploratória (DSC). As curvas de DSC para o PEAD e compósitos de PEAD/diatomita-C1 são apresentadas nas Figuras 9 e 10.

A Tabela 3 apresenta os resultados de T_m, T_c e X_c (corrigida pelo teor de diatomita) dos materiais, obtidos a partir das curvas de DSC.

Tabela 3. Resultados de calorimetria diferencial exploratória (DSC) para o PEAD e compósitos de PEAD-diatomita-C1

Sistema	T_m (°C)	T_c (°C)	X_c (%)
PE	133	119	72
PE-D2	132	120	77
PE-D5	133	119	78

De acordo com a Tabela 3, os resultados de temperatura de fusão e cristalização para a amostra PE foram de aproximadamente de 133 °C e 120 °C, respectivamente. Esses valores são típicos de polietileno de alta densidade. Coutinho, Maria e Mello (2003) mencionam em sua revisão que a Tm para o PEAD do variar entre 128ºC e 135ºC, dependendo da sua densidade. Zhang, Rong e Zhang (2003) observaram uma temperatura de cristalização para o PEAD em torno de 119°C.

A adição de diatomita ao PEAD não influenciou de forma significativa a Tm e a Tc dos materiais. Entretanto, pode-se observar uma ligeira variação na cristalinidade. Para o PEAD, o valor de cristalinidade foi 72 %, que está de acordo com aquele reportado por Peacock (2000).

Os compósitos de PEAD/diatomita-C1 apresentaram cristalinidade de 77-78 %. Este acréscimo de cristalinidade, pode ser atribuído, segundo Lima (2007), ao aumento da fração cristalina e diminuição da fração amorfa do PEAD, sugerindo que a diatomita atua como um agente nucleante.

Propriedades dinâmico-mecânicas

A análisede DMTA dá informações a respeito do comportamento visco-elástico do material compósito, e pode obter informações de dois componentes: módulo de armazenamento (deformação elástica) e o módulo de perda (deformação viscosa). (WUNDERLICH, 1997). No presente trabalho, serão discutidos os resultados do módulo de armazenamento (G') dos materiais, conforme apresentado na Figura 11 e Tabela 4.

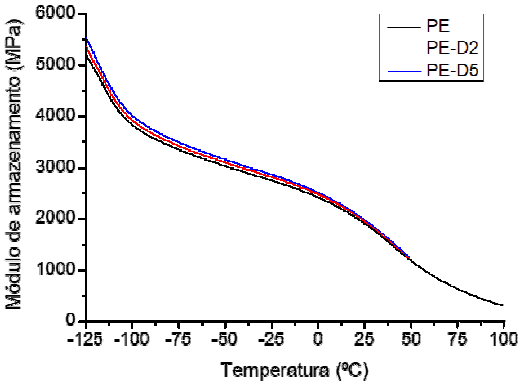


Figura 11. Curva do módulo de armazenamento (G') em função da temperatura para o PEAD e compósitos de PEAD/diatomita-C1

Tabela 4. Resultados de G' (23 °C) para o PEAD e compósitos dePEAD/diatomita-C1, obtidos a partir da curva de DMTA

Sistema	G' (MPa)
PE	1956
PEAD-D2	1997
PEAD-D5	2028

Pode-se observar na Figura 11 um pequeno deslocamento das curvas para maiores valores de G' com o aumento do teor de diatomita nos materiais. De acordo com a Tabela 4, o compósito com 5,0 % de diatomita (PEAD-D5) apresentou um módulo de armazenamento 3,6 % superior aquele observado para o PEAD puro. Portanto, os compósitos de PEAD-diatomita-C1 são um pouco mais rígidos que o PEAD puro. Esse aumento de rigidez sugere a

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

formação de uma discreta rede de reforço entre a diatomita e o PEAD. Um aumento mais significativo do módulo de armazenamento pode ter sido limitado pela distribuição não uniforme da diatomita-C1 nos materiais compósitos (observada nas imagens de SEM), formando aglomerados que dificultam a interação carga-matriz.

Entretanto, não se pode negligenciar o efeito da cristalinidade dos materiais no módulo de armazenamento. De acordo com os resultados de DSC e DMTA, o aumento da cristalinidade dos materiais resultou em um aumento do módulo de armazenamento. Resultado similar já foi observado por Dorigato, D'amato e Pegoretti (2012), em um estudo envolvendo a obtenção de compósitos de PEAD/sílica, e foi atribuído ao fato dos cristais de polietileno atuarem como pontos que restringem o movimento molecular, levando a um aumento de rigidez.

Ensaio de resistência ao impacto Izod

Com o objetivo de investigar o efeito da presença de diatomita-C1 no PEAD sobre a resistência ao impacto dos compósitos, foram realizados ensaios de impacto Izod, cujos resultados são apresentados na Figura 12.

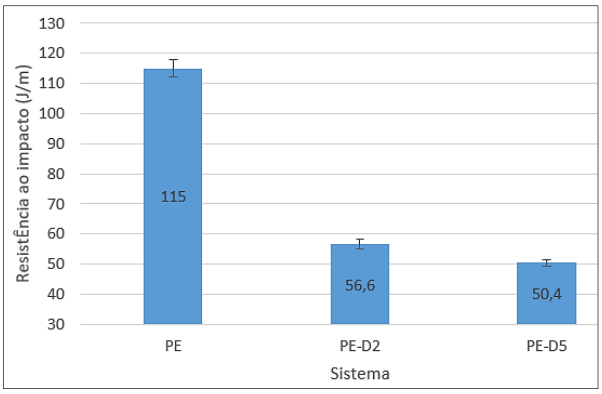


Figura 12. Resultados de resistência ao impacto Izod para o polietileno de alta densidade (PEAD) e compósitos de PEAD/diatomita-C1

De acordo com a Figura 12, o valor de resistência ao impacto para o PEAD puro foi de 115 J/m. Segundo Peacock (2000), os resultados de resistência ao impacto Izod esperados para uma amostra de PEAD, apresentam uma ampla faixa de aceitação, podendo estar entre 20 e 215 J/m. Os compósitos do presente trabalho encontram-se nessa faixa. Pode-se observar que a adição de diatomita-C1 ao PEAD resulta em uma acentuada redução da resistência ao impacto. Os compósitos de PEAD/diatomita-C1 apresentaram uma resistência ao impacto aproximadamente 50 % inferior àquela observada para o PEAD puro. Dangtungee, Rattanapan e Siengchin (2015) obtiveram resultado semelhante onde foi observado uma queda da resistência ao impacto com o aumento do teor de carga (carbeto de silício) em compósitos de matriz de PEAD. Eles atribuíram o resultado à existência de microespaços entre a carga e a matriz polimérica, resultante da fraca interação interfacial SiC-PEAD. De acordo com os pesquisadores, esses microespaços resultam em microfissuras quando o impacto ocorre, propagando mais facilmente a trinca, e diminuindo a resistência ao impacto dos compósitos.

No presente trabalho, o decréscimo da resistência ao impacto com a adição de diatomita-C1 tem explicação semelhante. As partículas de diatomita-C1, devido ao tamanho micrométrico, interagem fracamente com a matriz de PEAD, resultando em aglomerados maiores de partículas heterogeneamente distribuídos no compósito que facilitam as microfissuras, reduzindo a capacidade do material de absorver a energia de impacto.

Ensaio de flexão

A fim de medir a capacidade dos materiais de resistirem a uma deformação sob carga, foram realizados ensaios de flexão. Os resultados desses ensaios para PEAD e para os compósitos poliméricos de PED/diatomita-C1 são apresentados na Figura 13.

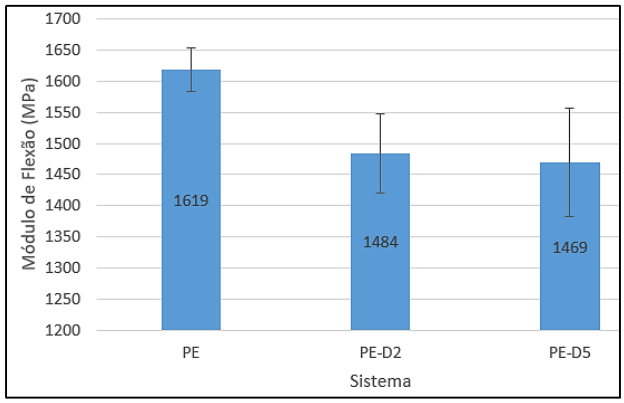


Figura 13. Resultados de módulo de flexão para o PEAD e compósitos de PEAD-diatomita-C1

De acordo com a Figura 13, o valor do módulo de flexão para o PEAD foi de 1619± 35 MPa, que está de acordo com o reportado por Peacock (2000). A adição de diatomita-C1 ao PEAD resultou em uma ligeira redução do módulo de flexão. A adição de 2,0 % de

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

diatomita-C1, por exemplo, resultou em um módulo de flexão de 1484 ± 64 MPa. Esse valor corresponde a uma redução de 8,3 %, em comparação ao módulo de flexão do PEAD puro. Contudo, esse resultado é superior aquele reportado por Dorigato D'amato e Pegoretti (2012), que observaram um módulo de flexão de 1190 ± 20 MPa para um compósito de PEAD com 2,0 % de sílica. O aumento do teor de diatomita-C1 para 5,0 % não resulta em redução significativa do módulo de flexão em relação ao compósito PE-D2, com 2,0 % de diatomita-C1.

Segundo Jeziórska *et al*. (2014), as propriedades de flexão estão associadas às interações interfaciais entre a carga e a matriz polimérica, e o aumento do módulo de flexão é observado quando há forte interação entre esses dois componentes.

Firmino *et al*. (2017) investigou a adição de pó de concha de tamanho micrométrico e nanométrico em PEAD e verificou que a adição da carga com tamanho micrométrico, em teores maiores que 2,0 %, resulta em um decréscimo do módulo de flexão. Comportamento oposto foi observado para as partículas nanométricas de pó de concha. Esse resultado foi atribuído à menor área superficial das partículas micrométricas, que diminuí a molhabilidade das mesmas pela matriz polimérica.

Como no presente trabalho foi verificada uma pequena redução no módulo de flexão com adição de diatomita-C1, pode-se inferir que a interação entre o as partículas de diatomita-C1 e a matriz de PEAD é uma interação fraca ou, pelo menos, insuficiente para garantir um reforço em termos de resistência à flexão. Além disso, visto que a modificação da diatomita com grupos CH_3 conferiu um caráter apolar à essa carga, e que a área específica (S_{BET}) da diatomita modificada apresentou um valor extremamente baixo em relação àquelas observadas na literatura para sílicas sintéticas, a fraca interação matriz-carga é possivelmente uma consequência da baixa molhabilidade das partículas micrométricas de diatomita-C1 pelo PEAD e não da polaridade da superfície das mesmas.

Ensaio de resistência à tração

De maneira a investigar o efeito da presença de diatomita-C1 em matriz de polietileno de alta de alta densidade (PEAD) sobre a resistência mecânica à tração dos materiais resultantes, o PEAD e os compósitos foram submetidos ao ensaio de resistência à tração, cujos resultados são apresentados na Figura 14.

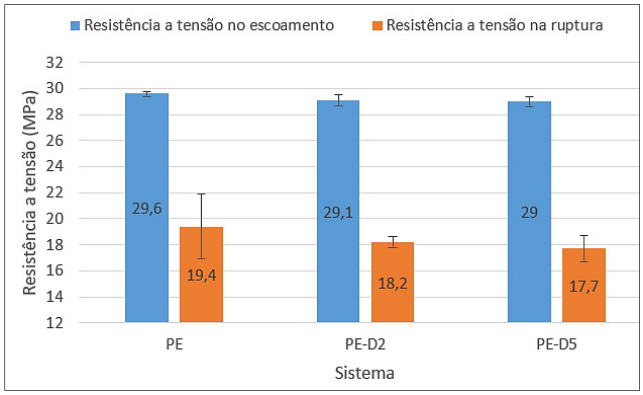


Figura 14. Resultados de resistência à tração para o PEAD e compósitos de PEAD-diatomita-C1

De acordo com a Figura 14, a adição de diatomita-C1 ao PEAD não influenciou as propriedades mecânicas de tensão no escoamento e tensão na ruptura. De acordo com Peacock (2000), os resultados de tensão no escoamento para o PEAD devem estar entre 17,92 e 31 MPa e os resultados de tensão na ruptura devem estar entre 22,1 e 31 MPa.

Dorigato, D'Amato e Pegoretti (2012) estudaram a resistência à tração de compósitos de PEAD contendo 2,0 % de sílica manométrica organofuncionalizada e observaram aumento da tensão no escoamento e na ruptura em relação ao PEAD puro. Esse resultado foi atribuído à forte interação de interface entre as nanopartículas e a matriz polimérica. Entretanto, em termos numéricos os resultados foram próximos ao do presente trabalho. Para fins comparativos, a tensão no escoamento observada nesse trabalho da literatura foi de 29,6 ± 0,5 MPa.

Os resultados de resistência à tração obtidos no presente trabalho corroboram com a hipótese discutida anteriormente de que a interação entre as partículas micrométricas de diatomita-C1 e a matriz de PEAD foi insuficiente para criar uma rede de reforço adequada para o aumento dos valores das propriedades mecânicas dos materiais compósitos.

CONCLUSÕES

O presente trabalho teve como objetivo geral avaliar as potencialidades e limitações da utilização da diatomita organofuncionalizada com grupos metilsilano como agente de reforço em compósitos, utilizando o PEAD como matriz

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

polimérica. As potencialidades encontradas foram o aumento da estabilidade térmica para o compósito preparado com maior teor de diatomita-C1 e a manutenção das propriedades de resistência à tração do PEAD. Esses resultados sugerem a possibilidade de utilização desse material em outras aplicações que explorem as características térmicas do mesmo.

Como limitações dos compósitos obtidos, pode-se mencionar a queda das propriedades de impacto Izod e de resistência à flexão em relação ao PEAD puro. Uma hipótese para a explicação desses resultados é a fraca interação entre o PEAD e a diatomita-C1, mais em virtude do tamanho micrométrico das partículas da carga do que pela polaridade de superfície da mesma.

Os resultados obtidos demonstraram que a organofuncionalização da diatomita com grupos metilsilano alterou suas propriedades superficiais e texturais. A organofuncionalização foi comprovada através da técnica de FTIR, na qual foi constatado o aparecimento de bandas características dos grupos funcionais metila após a modificação superficial. Em relação às propriedades texturais e de superfície, a modificação da diatomita proporcionou uma redução da área específica (S_{BET}) e da constante de BET, medida da polaridade da superfície.

Para trabalhos futuros, sugere-se o estudo da adição de outras porcentagens de diatomita ao PEAD, para uma melhor avaliação da influência da quantidade da diatomita adicionada sobre as propriedades finais do compósito. Além disso, poderia ser realizado uma moagem e a separação das frações com diferentes tamanhos de partícula, para avaliar se a redução do diâmetro de partícula da diatomita resultará em melhorias das propriedades mecânicas dos compósitos. Em relação a modificação superficial da diatomita, sugere-se o estudo do efeito da utilização de diferentes teores de metilsilanonas propriedades dos compósitos resultantes.

REFERÊNCIAS

1. ALLOUL, H.; ROQUES-CARMES, T.; TOUFAILY, J.; KASSIR, M.; PELLETIER, M.; RAZAFITIANAMAHARAVO, A.; HAMIEH, T.; VILLIÉRAS, F. Towards a better description of organosilane grafting onto silica particles using volumetric techniques based on molecular probing. Adsorption, v. 22, n. 7, p. 923-937, 2016.
2. AMBROZEWICZ, D.; CIESIELCZYK, F.; NOWACKA, M.; KARASIEWICZ, J.; PIASECKI, A.; MACIEJEWSKI, H. JESIONOWSKI, T. Fluoroalkylsilane versus alkylsilane as hydrophobic agents for silica and silicates. Journal of Nanomaterials, v. 2013, p.18, 2013.
3. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DO PLÁSTICO (ABIPLAST). Perfil 2015: Indústria Brasileira de Transformados Plásticos. São Paulo, 2015.
4. BERGNA, H. E.; ROBERTS, W. O. Colloidal silica: fundamentals and applications. 1. ed. CRC Press, 2006.
5. BRAMBILLA, R.; PIRES, G. P.; DOS SANTOS, J. H.Z., MIRANDA, M. L.; CHORNIK, B. Octadecylsilane-modified silicas prepared by grafting and sol–gel methods. Journal of electron spectroscopy and related phenomena. v. 156, p. 413-420, 2007.
6. BREESE, R. O. Y (1994). Diatomite. In: Industrial Minerals and Rocks, Ed. SMME, 6a edition, Senior Editor: CARR, D. D., p.397-412.
7. COUTINHO, F. M. B.; MARIA, L. C. de Santa; MELLO, I. L. Polietileno: Principais Tipos, Propriedades e Aplicações. Polímeros: Ciência e Tecnologia, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 1-13, 2003.
8. CHRISSAFIS, K.; PARASKEVOPOULOS, K.M.; TSIAOUSSIS, I.; BIKIARIS, D. Comparative study of the effect of different nanoparticles on the mechanical properties, permeability, and thermal degradation mechanism of HDPE. Journal of Applied Polymer Science, v. 114, n. 3, p. 1606-1618, 2009.
9. DANGTUNGEE, R.; RATTANAPAN, A.; SIENGCHIN, S. The Effect of Surface Modifiers on the Mechanical and Morphological Properties of Waste Silicon Carbide Filled High-Density Polyethylene. Journal of Materials and Metallurgical Engineering, v. 1, n. 1, 2015.
10. Departamento nacional de produção mineral (DNPM). Disponível em: <http://www.dnpm.gov.br/>. Acesso em: 12 set. 2017.
11. DORIGATO, A.; D'AMATO, M.; PEGORETTI, A. Thermo-mechanical

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

properties of high density polyethylene–fumed silica nanocomposites: effect of filler surface area and treatment. Journal of Polymer Research, v. 19, n. 6, p. 1-11, 2012.

12. FIRMINO, H. C. T.; CHAGAS, T. F.; MELO, P. M. A.; SILVA, L. B. Caracterização de compósitos particulados de polietileno de alta densidade/pó de concha de molusco. Matéria (Rio J.), Rio de Janeiro , v. 22, n. 2, 2017 .
13. GAO, J. L.; LIU, Y. H.; WEI, S. D. Preparation and properties of High-density polyethylene/silica composites. Advanced Materials Research, v. 279, p. 115-119, 2011.
14. HUMMEL, D. O. Atlas of Polymer and Plastics Analysis. 3 ed., Vol.1, 1996.
15. JEZIÓRSKA, R.; ZIELECKA, M.; GUTAROWSKA, B.; GAKOWSKA, Z. High-Density Polyethylene Composites Filled with Nanosilica Containing Immobilized Nanosilver or Nanocopper: Thermal, Mechanical, and Bactericidal Properties and Morphology and Interphase Characterization. Journal of Polymer Science, v. 2014, 2014.
16. LIMA, A. B. T. Aplicações de cargas minerais em polímeros. Dissertação de mestrado em engenharia. Escola politécnica da Universidade de São Paulo, 2007.
17. LIN-VIEN, D.; COLTHUP, N. B.; FATELEY, W. G.; GRASSELLI, J. G. The Handbook of Infrared and Raman Characteristic Frequencies of Organic Molecules. 1 Ed. Nova York: Academic Press, 1991.
18. LUZ, A. B.; LINS, F. A. F. Rochas & minerais industriais. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, p. 399-411, 2005.
19. PEACOCK, A. J. Handbook of polyethylene: structure, properties and applications. Ed. E.C. Company - Texas, 2000.
20. RAMOS, M. A.; GIL, M.H.; SCHACHT, E.; MATTHYS, G.; MONDELAERS, W.; FIGUEIREDO, M.M.. Physical and chemical characterisation of some silicas and silica derivatives. Powder technology, v. 99, n. 1, p. 79-85, 1998.
21. RAMOS, V. M. Compósitos e nanocompósitos de polietileno de alta densidade-SiO2: Avaliação do tamanho de partícula e organofuncionalização de sílicas sobre as propriedades termo-mecânicas, reológicas e superficiais. Monografia (graduação em Engenharia Química) – UNISINOS. São Leopoldo, 2017.
22. SMITH, W. F.; HASHEMI, J. Fundamentos de engenharia e ciência dos materiais. 5. ed. Porto Alegre: McGraw-Hill, 2012.
23. TEIXEIRA, V. G.; COUTINHO, F. M. B; GOMES, A. S. Principais métodos de caracterização da porosidade de resinas à base de divinilbenzeno. Química Nova, v. 24, n. 6, p. 808-818, 2001.
24. VANSANT, E. F.; VOORT, R. V. D.; VRANCKEN, K.C. Characterization and chemical modification of the silica surface. 1. ed. Amsterdam: Elsevier Science B.V, 1995.
25. VENTURA, A. M. F. M. Os Compósitos e a sua aplicação na Reabilitação de Estruturas metálicas. Ciência & Tecnologia dos Materiais, v. 21, n. 3-4, p. 10-19, 2009.
26. WUNDERLICH, B. Thermal Characterization of Polymer Materials; Turi, E. A., ed.; 2nd.ed., Academic Press Inc.: New York, 1997, vol. 1, p. 305.
27. ZHANG, M. Q. Mechanical Properties of Low Nano-Silica Filled High Density Polyethylene Composites. Polymer Engineering and Science, v. 43, n. 2, p. 490-500, 2003.
28. ZHURAVLEV, L. T. The surface chemistry of amorphous silica. Zhuravlev model. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, v. 173, n. 1, p. 1-38, 2000.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

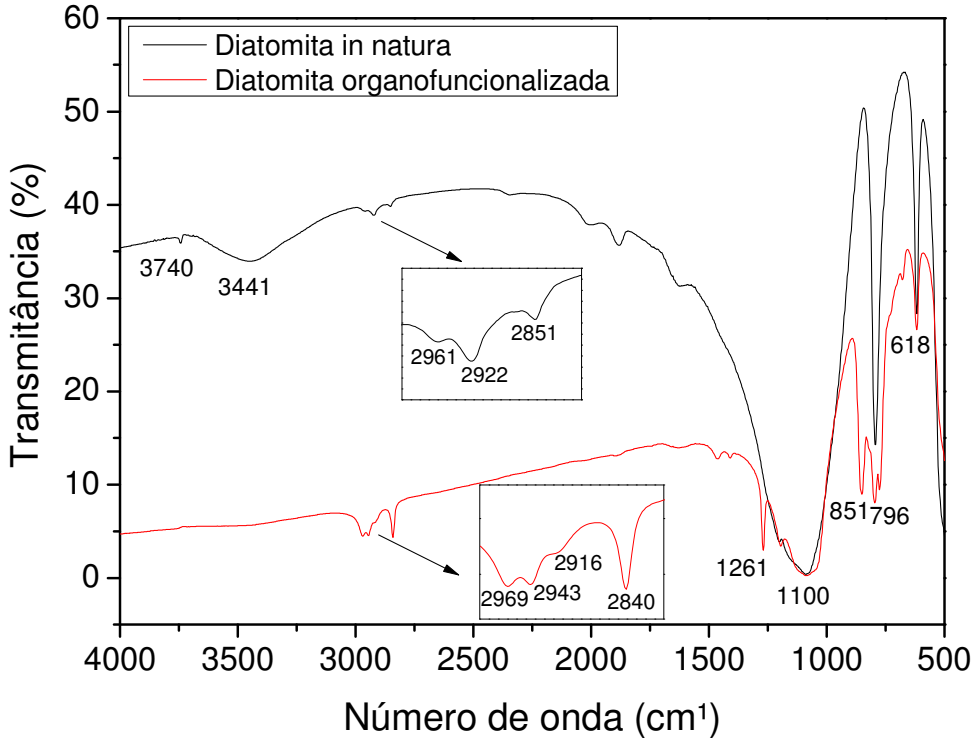


Figura 1. Espectros de FTIR da diatomita in natura e organofuncionalizada com metiltrimetoxisilano

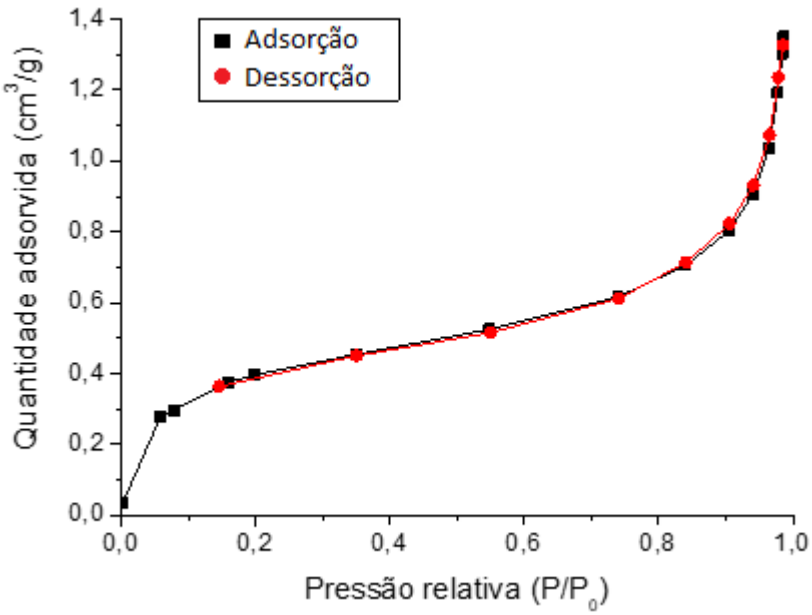
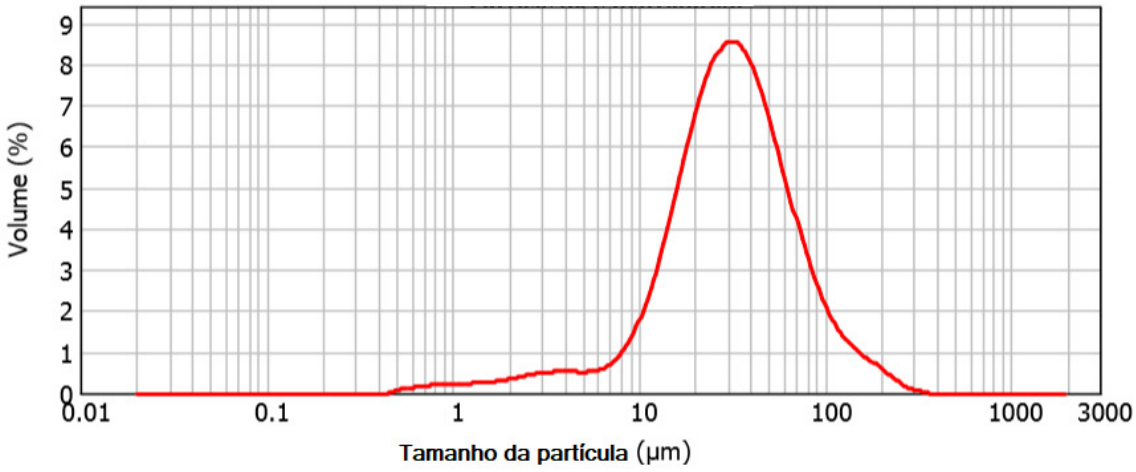
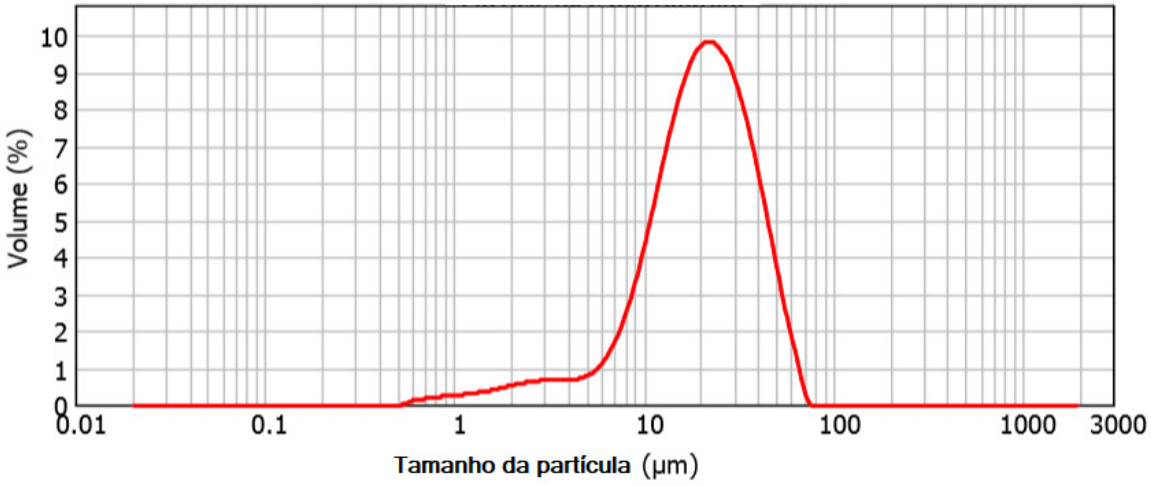


Figura 3. Isoterma de adsorção-dessorção de N_2 para a diatomita *in natura*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil



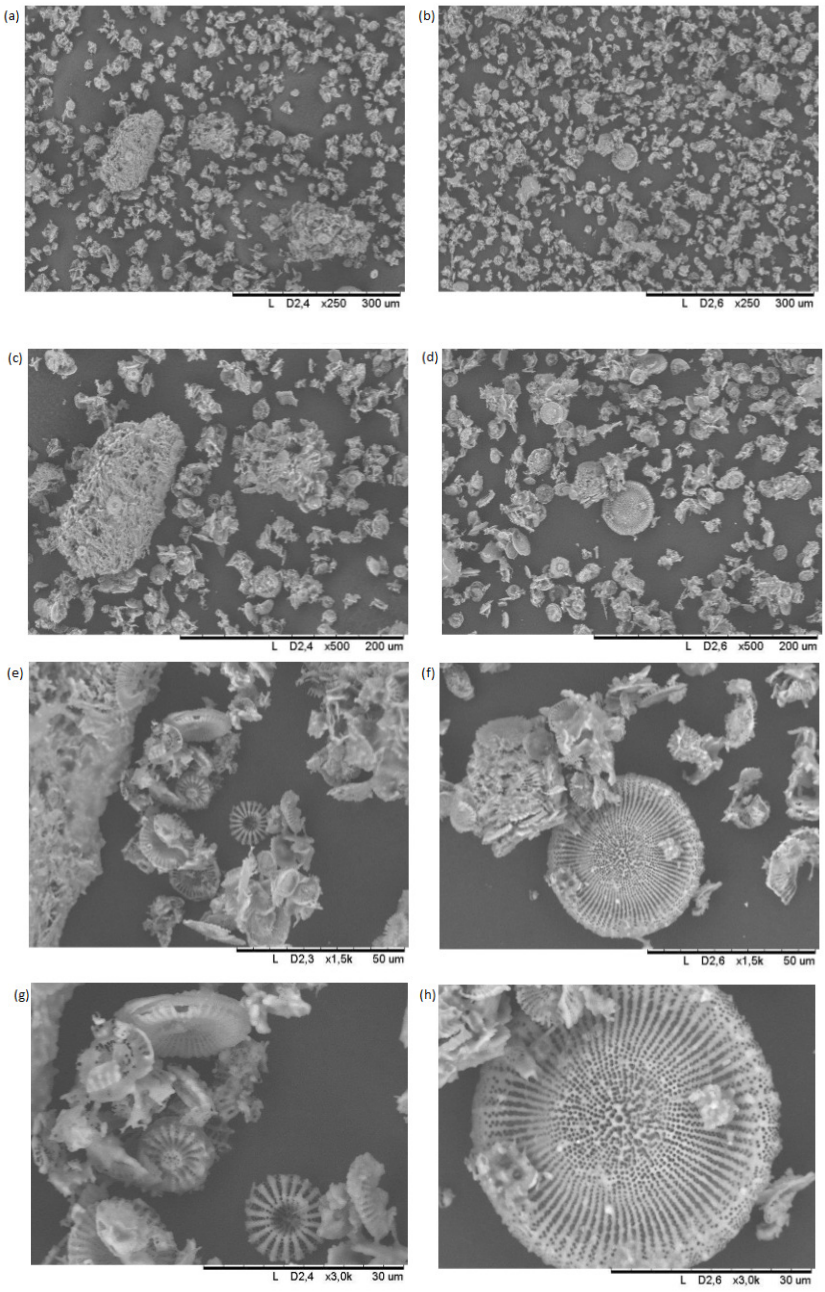
(a)



(b)

Figura 4. Curvas de distribuição de tamanho de partículas, obtidas pela técnica de granulometria de difração a laser: (a) diatomita in natura e (b) diatomita-C1

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil



(a) (b)

Figura 5. Micrografias de SEM das amostras: (a) diatomita in natura e (b) diatomita-C1 (Magnificações de 250, 500, 1500 e 3000 ×)

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

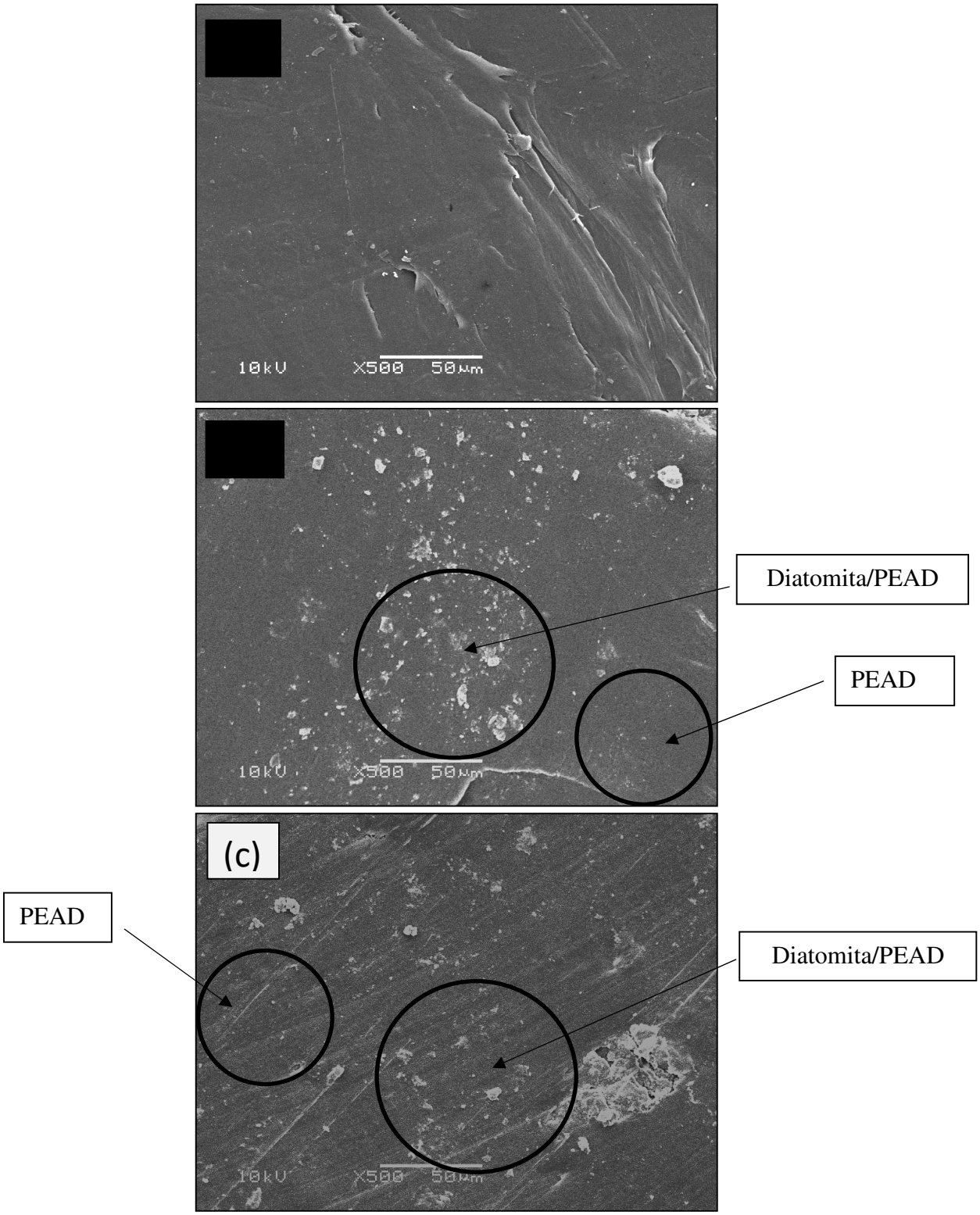


Figura 6. Micrografias de SEM das amostras: (a) PE; (b) PE-D2 e (c) PE-D5 (Magnificação de 500x)

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

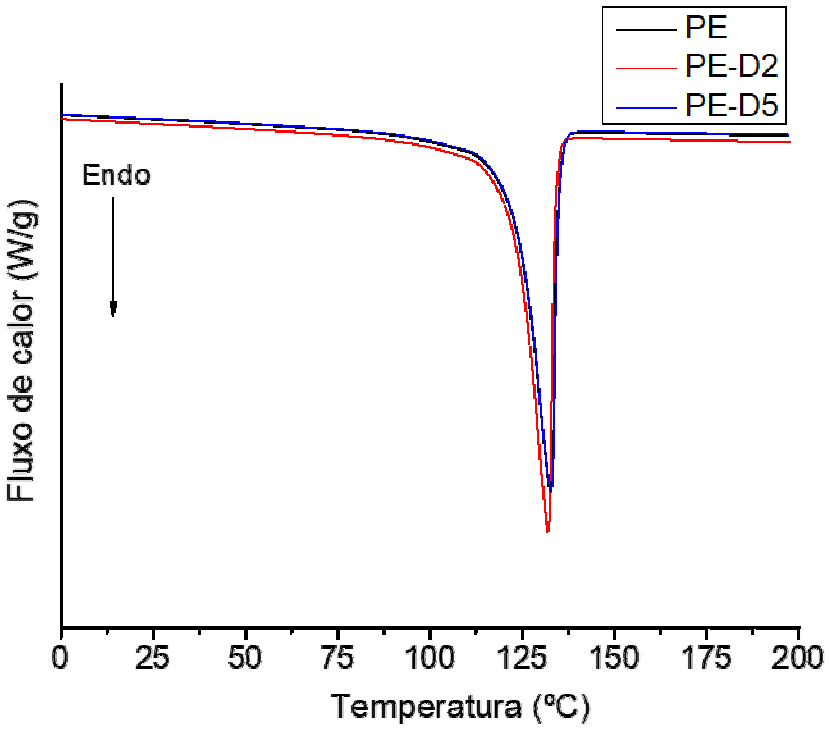


Figura 9. Curvas de DSC (segundo aquecimento) para PEAD e compósitos de PEAD/diatomita-C1

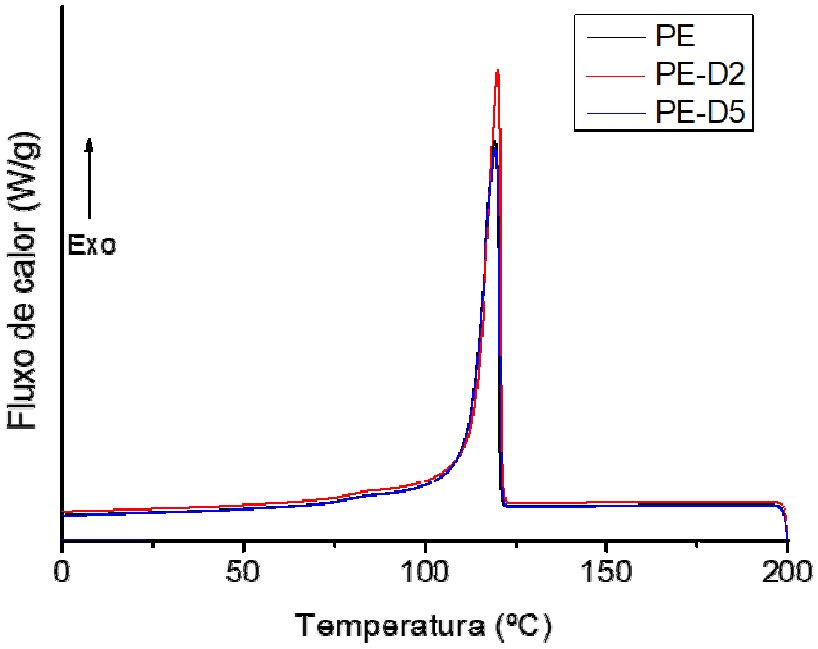


Figura 10. Curvas de DSC (resfriamento) para PEAD e compósitos de PEAD/diatomita-C1

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

DIAGNÓSTICO DO GERENCIAMENTO DOS RESÍDUOS SÓLIDOS PROVENIENTES DO MATADOURO PÚBLICO DO MUNICÍPIO DE POMBAL - PB

DIAGNOSIS OF THE MANAGEMENT OF SOLID WASTE FROM THE PUBLIC SLAUGHTERHOUSE OF THE MUNICIPALITY OF POMBAL-PB

SILVA, Michel Almeida da[1 *]; ANDRADE SOBRINHO, Luiz Gualberto de[2]; ALMEIDA, Simone Nóbrega Ribeiro[3]; SILVA, Gillianno Almeida da[4]; ALMEIDA, Ricardo Ricelli Pereira de[5]

[1,2,3,5] Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar – CCTA, Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Sistemas Agroindustriais – PPGSA, Rua Jario Vieira Feitosa, nº 1770, Bairro dos Pereiros, CEP 58.840-000, Pombal - PB, Brasil.
(Fone (83) 3431-4000 - Ramal: 4094)

[4] Faculdades Integradas de Patos - FIP, Centro de Ciências Sociais, Rua Horácio Nobrega, S/N, Bairro Belo Horizonte, cep 58.704-000, Patos-PB, Brasil
(Fone (83) 3421-7300

** Autor correspondente*
e-mail: micheldmalmeida@hotmail.com

Received 27 May 2018; received in revised form 15 August 2018; accepted 25 August 2018

RESUMO

As agroindústrias, em especial os matadouros de bovinos, são, por natureza, geradores de grande quantidade de resíduos sólidos e quando gerenciados inadequadamente podem ocasionar potenciais problemas ambientais e de saúde, como poluição e contaminação de corpos hídricos e do solo, produção de gases fétidos, além da proliferação de micro e macro vetores de doenças. Objetivou-se, portanto, realizar um diagnóstico do gerenciamento dos resíduos sólidos provenientes do matadouro público de Pombal-PB, identificando possíveis falhas de gestão e apontando medidas de controle ambiental em todas as fases do mesmo. A metodologia fundamentou-se num levantamento documental, bibliográfico e de campo através da aplicação de questionários junto aos atores sociais diretos da Vigilância Sanitária municipal, Secretaria do Meio Ambiente, Secretaria de Agricultura, funcionários do matadouro em questão e análise das instalações físicas, legislação, fiscalização e impactos ambientais oriundos desses serviços nesta agroindústria. Os resultados analisados nos possibilitaram vislumbrar a necessidade de especificações, normatizações e adequações estruturais, sanitária e ambiental no matadouro de Pombal-PB, bem como, de um adequado gerenciamento dos resíduos sólidos e efluentes líquidos oriundos do processo produtivo, pois apresentam sérias deficiências em todas as etapas do gerenciamento e as ações para controlar os impactos ambientais negativos das suas atividades são incipientes.

Palavras-chave: *Agroindústria,abate bovino, meio ambiente, impactos ambientais.*

ABSTRACT

The agroindustries, especially cattle slaughterhouses, are by nature generators of large amounts of solid waste, and when inadequately managed it can lead to potential environmental and health problems, such as pollution and contamination of water bodies and soil, production of fetid gases, besides the proliferation of micro and macro vectors of diseases. The objective was to carry out a diagnosis of solid waste management from the public slaughterhouse of Pombal-PB, identifying possible management failures and pointing out environmental control measures in all phases of the same. The methodology was based on a documental, bibliographical and field survey through the application of questionnaires with the direct social actors of the municipal Sanitary Surveillance, the Secretariat of the Environment, the Secretariat of Agriculture, employees of the slaughterhouse in question and analysis of the physical facilities, legislation, supervision and environmental impacts of these services in this agroindustry. The results analyzed allowed us to glimpse the need for specifications, normatizations and structural, sanitary and environmental adaptations in the

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

slaughterhouse of Pombal-PB, as well as adequate management of solid waste and liquid effluents from the production process, because they present serious deficiencies in all stages of management and the actions to control the negative environmental impacts of their activities are incipient.

Keywords: Agribusiness, cattle slaughter, environment, environmental impacts.

INTRODUÇÃO

Não há como se negar as constantes transformações ambientais e esgotamento de alguns recursos naturais pelo qual o planeta vem passando, contudo, é sabido que estas, não são decorrentes de um processo recente, mas sim, consequências de um desordenado aumento populacional, aliado a um significativo descontrole das atividades antrópicas, praticadas ao longo de muitos anos (VALENTE, 2003; SILVA, 2007).

As problemáticas ambientais há algum tempo tem sido evidenciada no cenário mundial, principalmente em países desenvolvidos, e no Brasil, apesar de em passos lentos, vem sendo tratada a pouco mais de quatro décadas, ganhando maior notoriedade e credibilidade a partir da publicação da Política Nacional do Meio Ambiente, por meio da Lei Federal N° 6.938 de 1981 (BRASIL, 1981; SECRON, GIORDANO e BARBOSA FILHO, 2010).

O aumento populacional em ritmo acelerado, somados ao crescente poder aquisitivo e de compra da mesma, bem como as facilidades do mercado consumidor, acabam por refletir no surgimento de novas indústrias e/ou agroindústrias para atender a demanda de mercado. A consequência disto é a acentuada produção dos resíduos sólidos com diferentes características, tornando o seu gerenciamento adequado um grande desafio para a sociedade moderna (BRITO, 2009; COSTA e CAVALCANTE, 2009; SANTANA, 2009).

No Brasil, a questão dos resíduos sólidos foi oficialmente regulamentada, em 02 de agosto de 2010 por meio da publicação da Lei 12.305, a qual estabeleceu a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS). Lei esta, que foi regulamentada em 23 de dezembro do mesmo ano pelo Decreto 7.404 (BRASIL, 2010). Estes dois dispositivos legais institucionalizaram os princípios, objetivos, instrumentos e diretrizes para a gestão dos resíduos sólidos no país, sejam estes, resíduos orgânicos e inorgânicos, urbanos e rurais, com origem no consumo diário, comerciais, industriais, construção civil, saúde, agrossilvopastoris, transportes, mineração, limpeza urbana, saneamento básico, resíduos perigosos dentre outros (BRASIL, 2010; ANTUNES, 2011).

A gestão dos resíduos sólidos, apesar de sua importância social, econômica, sanitária e ambiental, não vem tendo a devida ou merecida atenção por parte do poder público, o que tem levado cada vez mais ao comprometimento da já comprometida saúde da população, devido principalmente à proliferação de vetores de doenças, assim como aumentando o nível de degradação dos recursos naturais, especialmente o solo, o ar e os recursos hídricos (MONTEIRO et al., 2001).

Evidencia-se que o aumento da demanda pela produção de alimentos, fez com que o setor agroindustrial contribuísse de forma acentuada com os impactos provocados ao ambiente, havendo, desse modo, a necessidade do desenvolvimento de tecnologias e de sistemas de produção mais adequados (MORALES, 2006).

Quando gerados, os resíduos agroindustriais necessitam de um gerenciamento adequado, caso contrário, podem suscitar potenciais problemas ambientais, acarretando perdas de matérias-primas e energia, havendo assim a necessidade de maiores investimentos em sistemas de tratamentos (BENTO e CASARIL, 2012).

Em se tratando da crescente geração de resíduos sólidos pelo setor agroindustrial, destacam-se os matadouros, tendo em vista que, de acordo com Silva (2011), são responsáveis pela geração de um volume considerável de resíduos constituídos por estercos, conteúdo estomacal e intestinal, couros, ossos, pele, fezes e efluentes. Estes, quando gerenciados de modo inadequado podem causar sérios danos ao meio ambiente e a saúde pública, tais como poluição e contaminação de corpos hídricos e do solo, produção de gases fétidos, além da proliferação de micro e macro vetores de doenças.

A partir de uma análise do fluxo de

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

produção nos matadouros, estudos devem ser realizados com intuito de se adaptar aos procedimentos mais adequados, assim como as condições de manejo que melhor atende às exigências da legislação ambiental referentes ao gerenciamento dos resíduos gerados (MORALES, 2006).

Partindo deste pressuposto, este trabalho justifica-se pela necessidade de se avaliar as formas de gerenciamento dos resíduos e rejeitos oriundos do matadouro público do município de Pombal-PB, assim como, o potencial poluidor e as principais características destes, uma vez que é de fundamental importância para a concepção e o dimensionamento dos sistemas que envolvem o gerenciamento adequado destes resíduos.

Além disso, este estudo faz-se necessário, tendo em vista sua contribuição para o desenvolvimento econômico, ambiental e social do Município de Pombal-PB, por meio do melhor reaproveitamento dos subprodutos oriundos do processo produtivo e redução dos impactos ambientais negativos deste setor.

Desta forma, objetivou-se realizar um diagnóstico quanto aos problemas ambientais, no que diz respeito à geração, acondicionamento, armazenamento, coleta, transporte, tratamento, destinação dos resíduos e disposição final dos rejeitos gerados por meio das atividades desenvolvidas no matadouro público do município de Pombal-PB.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Classificação da Pesquisa

Os procedimentos metodológicos adotados no desenvolvimento desta pesquisa foram de natureza aplicada, a qual se distingue pelo compromisso de desenvolver conhecimento para aproveitamento de seus efeitos, com o objetivo de "contribuir para fins práticos, visando à solução mais ou menos imediata do problema encontrado na realidade" (VILAÇA, 2010).

Ainda segundo essa mesma fonte, as pesquisas aplicadas trazem o desígnio de solucionar questionamentos ou necessidades reais e adjacentes.

Foi realizada por meio de uma abordagem qualitativa, que se baseia em aspectos da realidade que não podem ser quantificados, visando o princípio da percepção e explicação das relações sociais, tendo em vista a não preocupação e emprego de instrumentos estatísticos como base na análise de um problema (GOLDENBERG, 2004).

Quanto aos objetivos à pesquisa é explicativa, ao qual de acordo com Andrade (2009), é bastante completa, tendo em vista que registra, analisa e explica os acontecimentos, preocupa-se em identificar os motivos que designaram o desencadeamento destes eventos, buscando o ensejo por meio do "por que".

De acordo com o procedimento técnico, trata-se de uma análise documental no qual é definida por Marconi e Lakatos (2008) como sendo:

> Um levantamento de toda bibliografia já publicada em forma de livros, revista, publicações avulsas e imprensa escrita cuja finalidade é colocar o pesquisador em contato direto com tudo aquilo que foi escrito sobre determinado assunto, com o objetivo de permitir ao cientista o reforço paralelo na análise de suas pesquisas ou manipulação de suas informações (MARCONI e LAKATOS, 2008).

Portanto, é um tipo de pesquisa que versa em saber elucidar a especificidade no campo de apreciação do conteúdo, sendo um conjunto de intervenções que visa representar o conteúdo do documento de forma distinta, esse desígnio consiste na reapresentação concisa do conhecimento (MARCONI e LAKATOS, 2008).

2.2 Caracterização da Área de Estudo

O município de Pombal-PB situa-se na região oeste do Estado da Paraíba, Mesorregião do Sertão Paraibano e Microrregião de Sousa (Figura 1). Este se encontra a uma altitude de 184 m em relação ao nível médio do mar, com as coordenadas geográficas de 06° 46' 12'' S e 37° 48' 07'' W e faz limite ao Norte com os Municípios de Santa Cruz-PB, Lagoa-PB e Paulista-PB, a Leste com Condado-PB, ao Sul São Bentinho-PB, Cajazeirinhas-PB, Coremas-PB e São José da Lagoa Tapada-PB e a Oeste com Aparecida-PB, São Domingos-PB e São Francisco-PB. O acesso à cidade de Pombal-PB se dar por duas Rodovias Federais, a BR – 230 e BR – 427 (CPRM, 2005).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

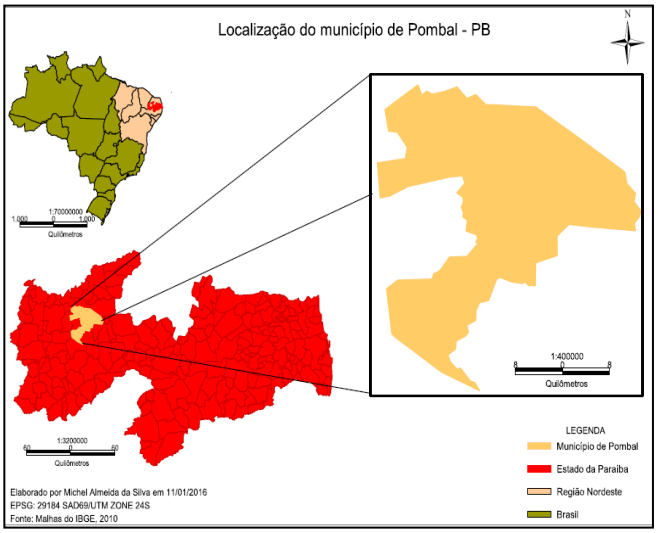


Figura 1 – *Mapa de localização do município de Pombal-PB*
Fonte*:* Autor (2016).

A população do município de Pombal-PB é representada por 32.110 habitantes, que ocupam uma área de 889 km2 perfazendo uma densidade demográfica de aproximadamente 36,1 hab./km^2 (IBGE, 2010). Este município encontra-se inserido nos domínios da bacia hidrográfica do Rio Piancó-Piranhas-Açu.

O matadouro público de Pombal-PB, agroindústria objeto deste estudo, promove apenas o abate de bovinos para o atendimento da demanda do referido município, tendo como principais usuários deste segmento agroindustrial, os açougueiros, os marchantes e os proprietários de supermercados e frigoríficos de Pombal-PB.

O matadouro em questão tem suas atuais instalações situada a cerca de 2 (dois) anos na área rural do município supracitado, a aproximadamente 4 Km do perímetro urbano, especificamente nas proximidades da BR - 427, sentido Pombal-PB a Paulista-PB.

2.3 Mecanismos de Coleta de Dados

A consecução deste trabalho foi realizada a partir da definição de 05 (cinco) etapas previamente estabelecidas.

A primeira etapa se deu por meio de uma análise documental e levantamento bibliográfico acerca do tema proposto, sendo este realizado durante todo o trabalho a fim de se obter a maior quantidade possível de dados sobre a problemática alvo da pesquisa;

A segunda etapa consistiu nas articulações junto aos setores competentes da Prefeitura municipal de Pombal-PB, quais sejam: Secretaria do Meio Ambiente, Secretaria da Agricultura, Setor Administrativo do Matadouro e Departamento de Vigilância Sanitária, para se obter as informações necessárias sobre o matadouro público do referido município.

A terceira etapa consistiu na elaboração de um questionário estruturado, contemplando pontos importantes como características gerais do matadouro, instalações físicas, legislação, certificação e fiscalização ambiental no segmento, resíduos sólidos gerados em suas atividades e as formas de gerenciamento dos mesmos.

A quarta etapa da pesquisa foi realizada em dois momentos.

I) Visita ao matadouro público e aos órgãos municipais diretamente envolvidos, cuja finalidade inicial foi fazer uma explanação a respeito dos objetivos da pesquisa e de que forma os atores sociais envolvidos poderiam contribuir para a realização da mesma;

II) Aplicação dos questionários junto aos Membros da Vigilância Sanitária, da Secretaria do Meio Ambiente, da Secretaria de Agricultura e funcionários do matadouro em questão nos meses de Outubro e Novembro de 2016, sendo apresentado aos entrevistados o Termo de Consentimento Livre e Esclarecimento, onde está explícito do que se trata o estudo, campo de abrangência, seus idealizadores e objetivos, garantindo-lhes, sigilo e anonimato, bem como a explicação acerca do que será feito com os resultados obtidos nesta pesquisa.

A quinta etapa constituiu na análise, tabulação e interpretação dos dados, para identificação dos principais problemas enfrentados no matadouro referente ao gerenciamento dos resíduos sólidos gerados por suas atividades e posterior analise dos aspectos ambientais deste, vislumbrando oportunidades de melhoria e adequação ambiental desse segmento, tendo em vista a falta ou a falha no sistema de gerenciamento dos resíduos atualmente adotados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Das Características Gerais do Matadouro

O matadouro de Pombal-PB, funciona sob

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

a responsabilidade administrativa da Prefeitura municipal, tendo suas atuais instalações situada a cerca de 2 (dois) anos na área rural do município supracitado, a aproximadamente 4 Km do perímetro urbano, especificamente nas proximidades da BR - 427, sentido Pombal-PB a Paulista-PB.

Quanto ao alvará de funcionamento do matadouro, nenhum setor competente entrevistado soube informar da existência deste instrumento que permite ao empreendimento prestador de serviços funcionarem dentro dos parâmetros técnicos da legislação urbanística atendendo ao zoneamento do município, demostrando assim, falha por parte dos setores competentes da Prefeitura de Pombal-PB.

Ao se tratar do licenciamento ambiental, este que de acordo com BRASIL (1997), é um procedimento administrativo pelo qual o órgão ambiental competente licencia a localização, instalação, ampliação e a operação de empreendimentos e atividades utilizadoras de recursos ambientais, consideradas efetiva ou potencialmente poluidoras; ou aquela que, sob qualquer forma, possam causar degradação ambiental, considerando as disposições legais e regulamentares, se pode observar que o matadouro público de Pombal-PB não tem as licenças ambientais para funcionamento, tendo como único meio de controle/fiscalização, a inspeção sanitária, sendo esta em nível municipal, realizada por meio do departamento de vigilância sanitária, atuando quando motivado por denuncia de terceiros.

Por sua vez, a Lei 7.889, de 23 de novembro de 1989, aponta as competências de cada órgão governamental no que diz respeito à fiscalização de abates de animais, sendo esta, de acordo com o tipo de comercialização a ser efetuada, incumbindo neste caso, a Secretaria Municipal de Agricultura a responsabilidade pela fiscalização do matadouro de Pombal-PB, uma vez que, a comercialização se dá apenas em nível municipal.

A agroindústria em questão realiza suas atividades de abate em 03 dias da semana, a saber: segundas, quartas e sextas-feiras, no período compreendido entre as 06h00min e 13h00min. E apresenta um quadro de 07 (sete) funcionários, sendo 01 (um) responsável pela administração do matadouro e 01 (um) médico veterinário, ambos vinculados à prefeitura municipal de Pombal-PB, e os demais, contratados pelos próprios usuários do matadouro (marchantes, açougueiros e proprietários de supermercados e frigoríficos), trabalhando, com exceção das botas, sem Equipamentos de Proteção Individual (EPI's).

3.2 Das Instalações Físicas do Matadouro

A partir da coleta de informações junto às secretarias do município, bem como de observações realizadas in loco, tem-se que o matadouro público de Pombal-PB apresenta as seguintes características físicas e estruturais, conforme descrita no Quadro 1 a seguir

Quadro 1 – *Características da estrutura física do Matadouro*

.

Características da estrutura física do Matadouro	
Local coberto	Sim
Piso impermeabilizado	
Piso com sistema de drenagem	
Paredes e piso de fácil higienização	
Câmara fria	Não
Iluminação natural e artificial suficiente	Sim
Vestuários e armários para os funcionários	Não
Instalações para serviços administrativos	
Fonte de abastecimento de água do Matadouro	Carro pipa
Média diária do consumo de água utilizada no Matadouro (Litros/dia)	10.000
Principal fonte de energia do Matadouro	Elétrica
Vias de acesso ao Matadouro	Ótima

Fonte: Autor (2017).

3.3 Dos Animais Abatidos no Matadouro

De modo a atender a demanda dos principais usuários deste segmento agroindustrial, quais sejam: açougueiros, marchantes, proprietários de supermercados e frigoríficos do município de Pombal-PB, o matadouro em questão, de acordo com dados coletados junto aos atores sociais envolvidos, promove apenas o abate de bovinos (média de 51 a 75 animais/semana), sendo estes animais, oriundos apenas do próprio município.

De acordo com as informações coletadas, bem como constatação in loco, ao chegarem ao curral do matadouro, os animais passam por um período de repouso de aproximadamente1 (uma) hora antes do abate, quando o que determina o RIISPOA, é que passem no mínimo 24 (vinte e quatro) horas em descanso, em jejum e dieta

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

hídrica. Este período de repouso pode ser reduzido, quando o tempo de transporte dos animais até o matadouro não seja superior a 2 (duas) horas, porém, esse período de descanso nunca deve ser inferior a 6 (seis) horas (BRASIL,1952).

No que diz respeito à submissão dos animais a exames de sanidade antes do abate, constatou-se que alguns órgãos competentes da prefeitura de Pombal-PB, os quais deveriam estar cientes dessa prática, desconhecem ou tem dúvida sobre a realização da mesma.

Além disso, os entrevistados que afirmaram a existência da submissão dos animais a exames antes do abate, não nos deram mais detalhes dos procedimentos adotados, apenas informaram que são realizados exames "Físicos *Ante Mortem*" nos bovinos, sem mais especificações.

Após as operações de abate e processamento das carnes, a mesma é transportada do matadouro de modo inadequado por meio de um veículo (tipo baú) sem câmara fria (Figura 2), para serem posteriormente encaminhadas aos centros de comercialização, quais sejam: supermercados, açougues e frigoríficos do município de Pombal-PB.



Figura 2 – *Veículo utilizado no transporte das carnes*
Fonte: Autor (2017).

3.4 Dos Resíduos Sólidos Gerados

Como consequências das operações de abate e processamento das carnes e derivados, originam-se vários subprodutos e/ou resíduos sólidos, os quais devem passar por um gerenciamento adequado.

No matadouro público de Pombal-PB são gerados, em sua maior parte, resíduos de natureza orgânica quais sejam: esterco (recolhido durante a limpeza dos currais), cabeças, chifres, couros, cascos, ossos, vísceras e carne rejeitada, bem como as aparas retiradas das carcaças durante a atividade de abate.

Pode-se observar que no matadouro em questão, os resíduos sólidos, quando gerados, são imediatamente segregados na fonte geradora, no entanto, peca por não ser realizada a separação dos mesmos de acordo com suas classes, características e/ou potencial de reaproveitamento de cada resíduo, com exceção dos couros que são separados e vendidos para um empresário do município de Pombal-PB.

A segregação na fonte é importante, pois possibilita um melhor gerenciamento dos resíduos nas etapas subsequentes. No matadouro de Pombal-PB esta etapa é de fundamental importância, pois, evita a mistura de resíduos incompatíveis e reações químicas indesejadas, aumentando a possibilidade de reutilização, reciclagem, bem como da segurança no manuseio dos resíduos sólidos.

Após a segregação, todos os demais resíduos oriundos do processo produtivo no matadouro são acondicionados em bombonas plásticas, contudo, estas não são tampadas (Figura 3), sendo em seguida armazenadas em local aberto nas dependências do próprio matadouro por um período não superior a 24 horas, uma vez que, estes resíduos caracterizam-se, dentre outros aspectos, por serem altamente putrescíveis.



Figura 3 – *Recipiente para acondicionamento e local de armazenamento dos resíduos*
Fonte: Autor (2017).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Nesta etapa do gerenciamento deve-se, portanto, acondicionar os resíduos em recipientes apropriados (com tampas), de acordo com a quantidade, as características e a possibilidade de reaproveitamento, reciclagem, reutilização ou outras formas de tratamento, evitando a presença de moscas, bem como outros animais e vetores transmissores de doenças.

O Armazenamento por sua vez, deve consistir na contenção temporária dos resíduos e deve ser realizado de forma segura em área externa ao setor de produção do matadouro. Sendo este local, coberto e impermeabilizado, para evitar, dentre outros aspectos, acidentes, proliferação de vetores, minimizarem o impacto visual, reduzir a heterogeneidade dos resíduos, assim como facilitar a realização da etapa posterior (coleta), conforme determinação de Brasil (2010).

A coleta e o transporte dos resíduos do matadouro são realizados pelo setor competente da prefeitura municipal de Pombal-PB, sendo estes realizados três vezes por semana, ou seja, sempre nos dias em que há abate de animais. O resíduo coletado é transportado por meio de um trator, o qual é acoplado a um carroção (Figura 4), prosseguindo então para as etapas de gerenciamento posteriores.



Figura 4 – *Carroção utilizado no transporte dos resíduos*
Fonte: Autor (2017).

A destinação final ambientalmente adequada dos resíduos de acordo com o disposto na PNRS inclui a reutilização, a reciclagem, a compostagem, a recuperação e o aproveitamento energético ou outras destinações admitidas pelos órgãos competentes do Sistema Nacional do Meio Ambiente (Sisnama), do Sistema Nacional de Vigilância Sanitária (SNVS) e do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária (Suasa), entre elas a disposição final, observando normas operacionais específicas de modo a evitar danos ou riscos à saúde pública e à segurança e a minimizar os impactos ambientais adversos (BRASIL, 2010).

A partir dos dados coletados junto aos atores sociais envolvidos na pesquisa e das observações feitas no matadouro de Pombal-PB tem-se que, os resíduos oriundos desse segmento agroindustrial não são submetidos a nenhum tipo de tratamento (Reciclagem, Compostagem, Incineração, Aproveitamento Energético (Biodigestor) ou Graxarias) antes de serem encaminhados para disposição final.

Pacheco (2006) ressalta que grande parte dos resíduos de matadouros caracteriza-se por causar problemas ambientais significativos se não tratado adequadamente. Além disso, a maioria é altamente putrescível e pode acarretar odores desagradáveis se não for processado rapidamente em graxarias anexas ou removida adequadamente da fonte geradora no prazo não superior a 24 horas, para processamento adequado por terceiros em graxarias autônomas.

Animais mortos e carcaças, bem como os materiais ou partes dos animais que possam conter ou ter contato com partes condenadas pela inspeção sanitária são consideradas de alto risco e devem ser dispostos ou tratados de forma a garantir a destruição de todos os organismos patogênicos (PACHECO, 2006).

Os resíduos como ossos, vísceras, carne rejeitada, sangue, bem como as aparas retiradas das carcaças, oriundos do processo de abate, devem ser reaproveitados, desde que recolhidos e encaminhados à graxarias em razoável estado de conservação, para produção de farinhas usadas na fabricação de rações animais, fertilizantes, assim como o sebo que pode ser utilizado na fabricação de produtos farmacêuticos, cosméticos, glicerina e outras aplicações industriais (PACHECO, 2006).

Sunada (2011) aponta em seu estudo, que estes resíduos caracterizam-se por apresentar a capacidade de agregação de valor por meio da produção de compostos ricos em nutrientes, biofertilizante, os quais podem ser empregados como fertilizantes agropecuários, bem como na geração de biogás.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

A compostagem “consiste num processo biológico de decomposição controlada da fração orgânica biodegradável contida nos resíduos, resultando em um produto estável” (SOUZA, 2005), similar à matéria orgânica contida no solo (ZBYTIEWSKI e BUSZEWSKI, 2005), tornando-o um material condicionador de solos. Sendo considerado um processo importante para que os nutrientes presentes nos resíduos sejam devolvidos ao solo, como biofertilizante ou fertilizantes orgânicos para a nutrição das plantas (MORALES, 2011).

Conforme Morales (2006) em seu estudo da avaliação dos resíduos sólidos e líquidos num sistema de abate de bovinos, o biogás é, junto com o biofertilizante, um excelente subproduto para agregar valor na reciclagem de resíduos por biodigestão anaeróbia. Outra forma de utilização para o resíduo sólido é a combustão direta, com agregação de sebo, também produzido no processo, sendo uma boa alternativa na geração de energia.

O desenvolvimento desses processos e/ou tratamentos colabora de forma significativa na minimização dos impactos negativos que tais resíduos podem causar ao meio ambiente, além de ser extremamente favorável do ponto de vista econômico e de saúde pública.

Quanto à disposição final dos resíduos sólidos provenientes do matadouro de Pombal-PB, observa-se mais um problema nessa etapa do gerenciamento, uma vez que, posteriormente a realização da coleta e do transporte dos resíduos pelo setor competente da Prefeitura, estes são encaminhados de forma inadequada ao vazadouro a céu aberto (Lixão) do município, uma vez que Pombal-PB não possui mecanismos para disposição final ambientalmente adequada dos seus rejeitos.

De acordo com o disposto na PNRS a disposição final ambientalmente adequada consiste na distribuição ordenada de rejeitos em aterros, observando normas operacionais específicas de modo a evitar danos ou riscos à saúde pública e à segurança e a minimizar os impactos ambientais adversos (BRASIL, 2010).

3.5 Dos Efluentes Líquidos Gerados

Em matadouros de bovinos, o elevado consumo de água, origina volumes significativos de efluentes líquidos em todas as fases do processo produtivo, e de acordo com Silva (2011), estes efluentes caracterizam-se principalmente por apresentar alta carga orgânica, tendo em vista à presença de sangue, gordura, esterco, conteúdo estomacal não digerido e intestinal, bem como altos conteúdos de nitrogênio, fósforo e sal.

A partir das observações in loco foi possível constatar que no matadouro público de Pombal-PB não existe nenhum sistema de tratamento para os efluentes líquidos oriundos do seu processo produtivo. Quando gerados, os efluentes apenas passam por um sistema de gradeamento (Figura 5), os quais se encontram localizados em alguns ambientes do matadouro, cuja finalidade é apenas a retenção/remoção dos sólidos mais grosseiros.



Figura 5 – *Sistema de gradeamento do matadouro*
Fonte: Autor (2017).

Posteriormente, os efluentes líquidos oriundos do processo produtivo e de limpeza do matadouro, são encaminhados inadequadamente a uma vala a céu aberto e não impermeabilizada (Figura 6), localizada num terreno pertencente ao próprio matadouro de Pombal-PB.



Figura 6 – *Área de disposição dos efluentes gerados no matadouro*
Fonte: Autor (2017).

Ao passo que a vala excede sua capacidade limite de acumulação do efluente, uma empresa contratada pela prefeitura

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

municipal de Pombal-PB faz a remoção e transporte destes, encaminhando-os inadequadamente para as lagoas de estabilização do município (Figura 7), pois as mesmas ainda não se encontram em pleno funcionamento.



Figura 7 – *Iagoas de estabilização do município de Pombal-PB*
Fonte: Autor (2017).

Os efluentes líquidos de matadouros, quando não tratados, representam foco de proliferação de insetos, agentes infecciosos, odores indesejáveis, e quando lançados em cursos d'água, podem ocasionar a eutrofização acelerada dos mesmos, além do comprometimento da fauna aquática (SILVA, et al., 2016).

Para os efluentes destas agroindústrias, são desenvolvidos tratamentos por meio de processos biológicos, antecedidos de operações de pré-tratamento, os quais são de suma importância na remoção de penas, pêlos, vísceras, óleos, graxas e sólidos em suspensão. A inobservância destas etapas implica em processos subsequentes sem sucesso (SCARASSATI et al., 2003). Os métodos físico-químicos podem remover parte da carga orgânica dos efluentes, porém o custo dos reagentes é alto e a eficiência na remoção da DBO e DQO dissolvidas é baixa (MELLO, 2007).

Para o matadouro de Pombal-PB é ideal que seja realizado a separação inicial dos efluentes gerados em duas linhas principais, quais sejam:

I) A linha "verde" para que possa receber principalmente os efluentes gerados na recepção dos animais, nos currais, na condução para o abate, bem como do setor de bucharia e triparia;

II) A linha "vermelha" cujos contribuintes principais são os efluentes gerados no abate propriamente dito, no processamento da carne e das vísceras, incluídas as operações de desossa/cortes (PACHECO, 2006).

A partir de então, estes efluentes devem ser encaminhados para uma estação de tratamento, precedidos de operações de pré tratamento (gradeamento) para retenção/remoção dos sólidos grosseiros e posteriormente, para o corpo receptor, sendo respeitados os limites legais de lançamento para tal.

Para os efluentes líquidos, gerados em abundância cujas características mostram elevado teor de umidade, como é o caso dos matadouros, Morales (2011) pondera em seu estudo que a biodigestão anaeróbia é adequada, pois dispensa o acréscimo de água e de quantidades consideráveis de nutrientes, que são essenciais para o desenvolvimento e manutenção dos microrganismos que participam do processo.

As águas residuárias provenientes de matadouros de bovinos caracterizam-se por sua natureza orgânica, o qual favorece o tratamento biológico, tornando possível a utilização de qualquer processo, sendo a limitação da escolha do processo em função da disponibilidade de área, dos custos de construção e operação, e dos padrões de lançamento previstos (SANTOS et al., 2011).

Tal tratamento utiliza a matéria orgânica dissolvida ou suspensa como substrato para microorganismos, que os transformam em gases, água e substâncias mais simples e inorgânicas (SANTOS et al., 2011).

CONCLUSÃO

Em face dos resultados obtidos nessa pesquisa, pode-se identificar que existe nos setores responsáveis pela administração do matadouro uma lacuna de informações técnicas e documentais, além da urgente necessidade de melhorias nos mecanismos de controle e fiscalização sanitária, adequação ambiental, bem como das condições de funcionamento das

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

instalações, máquinas, equipamentos e de higiene no matadouro público de Pombal-PB.

Os resíduos sólidos oriundos do processo produtivo nesta agroindústria não vêm sendo gerenciado de maneira adequada apesar do seu potencial poluidor e de sua importância, tendo em vista seu valor econômico agregado à correta destinação e/ou tratamento.

Quanto aos efluentes líquidos gerados, tem-se que as ações para minimizar os impactos ambientais negativos são incipientes, pois no matadouro em questão não há acompanhamento técnico e monitoramento dos despejos, nem sistema de tratamento para efluentes gerados, lançando-os inadequadamente sobre o solo, em uma vala não impermeabilizada.

Portanto, um adequado sistema de gerenciamento de resíduos provenientes da atividade de abate bovino, é um grande desafio para a gestão municipal, o qual passa pela geração da menor quantidade de resíduo possível e, quando gerados, que o mesmo seja devidamente acondicionado, armazenado, coletado, transportado, reprocessado, tratado e disposto no ambiente da forma mais segura possível e ambientalmente correta conforme determinação da Política Nacional dos Resíduos Sólidos.

Diante do exposto, a participação da gestão municipal é de suma importância no desenvolvimento e avanços na adequação ambiental do matadouro em questão por meio do controle dessas atividades, aliado a conscientização e educação ambiental dos usuários e funcionários a cerca das consequências de suas ações.

REFERÊNCIAS

1. ANDRADE, M. M. **Introdução á Metodologia do Trabalho Científico**; 9ª ed. São Paulo. Editora Atlas, 2009.

2. ANTUNES, P. B. **Direito Ambiental**. 12ª Edição. Ed. Lumen Juris. São Paulo, 2011.

3. BENTO, C. B. P; CASARIL. K. B. P. B. **Bioconversão de Resíduos Agroindustriais Ligninocelulósicos por Fungos Causadores da Podridão Branca: Uma Alternativa à Produção de Alimentos**. Volume 14 – Número 19 - Jan/Jun. 2012 – p. 151-180.

4. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989. **Dispõe sobre a Inspeção Sanitária e Industrial dos Produtos de Origem Animal, e dá outras Providências**. Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>. Acesso em: 02 de jan. de 2017.

5. _____. Ministério da Agricultura. **Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA)**. Diário Oficial da União, 1952. Conjunto de leis, normas e decretos sobre a inspeção de produtos de origem animal. Disponível em: <http:www.agricultura.gov.br>. Acesso em 30 de dez. de 2016.

6. _____. Presidência da República. Lei Nº 12.305, de 02 de agosto de 2010. **Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 02 de agosto de 2010.

7. _____. Decreto nº 7.404, de 23 de dezembro de 2010. **Regulamenta a Lei no 12.305, de 2 de agosto de 2010, que institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos, cria o Comitê Interministerial da Política Nacional de Resíduos Sólidos e o Comitê Orientador para a Implantação dos Sistemas de Logística Reversa, e dá outras providências. Brasília, DF, 2010.** Disponível em: <https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2010/decreto/d7404.htm>. Acesso em: 28 dez. 2016.

8. BRITO, A. S. de. **Diagnostico e avaliação das áreas de destino dos resíduos sólidos urbanos no estado do Rio Grande do Norte**. Natal, 2009. 97f. Dissertação (Mestrado em engenharia de produção) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2009.

9. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. Resolução Conama nº 237, de 19 de dezembro de

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

1997. **Dispõe sobre a revisão e complementação dos procedimentos e critérios utilizados para o licenciamento ambiental**.Brasil, Brasília, DF, 19 de Dezembro de 1997.

10. COSTA, E. C. S.; CAVALCANTE, M. S. **Gerenciamento de resíduos sólidos: Estudo de caso de uma construtora de grande porte.** 2009. 70f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Unidade de Ensino Superior Sul do Maranhão, 2009.

11. GOLDENBERG, M. **A arte de pesquisar: Como fazer pesquisa qualitativa em ciências sociais**. 8ª edição. Ed. Record. Rio de Janeiro, 2004.

12. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Cidades**. 2010. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindowes.htm. Acesso em: 15 de Dez. 2016.

13. MARCONI, M. A.; LAKATOS. E. M. **Metodologia do Trabalho Científico**. 7ª ed. São Paulo. Editora Atlas, 2008.

14. MELLO, E. J. R. **Tratamento de Esgoto Sanitário: Avaliação da estação de tratamento de esgoto do Bairro Novo Horizonte na cidade de Araguari – MG** [online], 2007. Monografia (Graduação em Engenharia Sanitária) –Uniminas, Uberlândia, 2007. Disponível em: <www.saearaguari.com.br/.../tratamento_esgoto_-_ETE_compacta.pdf.>. Acesso em 07 jan. 2017.

15. MONTEIRO, J. H. P. et al. **Manual de Gerenciamento Integrado de Resíduos Sólidos.** Elaborado pelo IBAM - Instituto Brasileiro de Administração Municipal. Rio de Janeiro, 2001.

16. MORALES. D. S. A. **Resíduos Sólidos de Bovinos Proveniente da Estação de Tratamento de Efluentes de um Frigorífico Pelo Processo de Compostagem e Vermicompostagem na Produção de Mudas de Alface.** Santa Maria, 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) Universidade Federal de Santa Maria – UFSM. Santa Maria – RS, 2011.

17. MORALES, M. M. **Avaliação dos Resíduos Sólidos e Líquidos num Sistema de Abate de Bovinos.** Botucatu, 2006. 73f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP, Campus de Botucatu. Botucatu – SP, 2006.

18. PACHECO, J. W. **Guia técnico ambiental de frigoríficos - industrialização de carnes (bovina e suína)** / José Wagner Pacheco - São Paulo: CETESB, 2006. 85p. (Série P + L).

19. _____. **Guia técnico ambiental de abates (bovino e suíno)** / José Wagner Pacheco - São Paulo: CETESB, 2006. 98p. (Série P + L).

20. SANTANA, M. C. **Impacto ambiental causado pelo descarte de embalagens plásticas - Gerenciamento e riscos.** São Paulo, 2009. 80f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia em Produção com ênfase em Plástico) **–** Faculdade de Tecnologia da Zona Leste, São Paulo - SP, 2009.

21. SANTOS, C. A. S. et al. **Sistema de tratamento de efluentes de matadouro bovino utilizando lagoas de estabilização**. ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer - Goiânia, vol.7, N.13. 2011.

22. SCARASSATI, D. et al. **Tratamento de efluentes de matadouros e frigoríficos**. In: III FÓRUM DE ESTUDOS CONTÁBEIS, 2003, Rio Claro. Artigos... Rio Claro: Faculdades Integradas Claretianas, 2003. Disponível em: <http://www.ceset.unicamp.br/lte/Artigos/3fec2414.pdf>. Acesso em: 06 de Jan. de 2017.

23. SECRON, M. B.; GIORDANO, G.; BARBOSA FILHO, O, **Controle da poluição hídrica gerada pelas atividades automotivas**. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2010.

24. SERVIÇO GEOLÓGICO DO BRASIL – CPRM. **Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea:**

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Diagnóstico do município de Pombal, estado da Paraíba/ Organizado [por] João de Castro Mascarenhas, Breno Augusto Beltrão, Luiz Carlos de Souza Junior, Franklin de Morais, Vanildo Almeida Mendes, Jorge Luiz Fortunato de Miranda. Recife: CPRM/PRODEEM, 2005.

25. SILVA, A. N. **Manejo de Resíduos Sólidos Industriais: Frigorífico de Araguaína – TO**. Brasília, 2011. 57f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Administração) – Universidade de Brasília, Departamento de Administração - EaD. Brasília, 2011.

26. SILVA, G. G. da.**Diagnóstico dos aspectos ambientais em oficinas mecânicas localizadas no município de Foz do Iguaçu**. Foz do Iguaçu, 2011.50 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Ambiental) – Faculdade Dinâmica das Cataratas – UDC, Foz do Iguaçu – PR, 2011.

27. SILVA, S. G. Da. **Resíduos Sólidos: Geração, Tratamento e Disposição – O Caso das Indústrias Moveleiras de Arapongas/PR.** Marília, 2007. Dissertação (Mestrado em Direito) -- Curso de Direito da Universidade de Marília, Marília, 2007.

28. SILVA, T. F. do A. et al. **Gestão de efluentes decorrente do processo de abate bovino no matadouro municipal de Almeirim-PA.** Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia - CONTECC'2016. Foz do Iguaçu, 2016.

29. SOUZA, J.A. **Generalidades sobre os efeitos benéficos da matéria orgânica na agricultura**. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 26, n. 224, p. 7-8, 2005.

30. SUNADA, N. S.; **Efluente de abatedouro avícola: processos de biodigestão anaeróbia e compostagem**; 2011, 87 f; Dissertação (mestrado em Zootecnia); Faculdade de ciências agrárias; Universidade Federal da Grande Dourados; Dourados, MS, 2011.

31. VALENTE, A. C. M. **Proposta da aderência de um sistema de gestão ambiental em uma oficina mecânica**. 2003. 91 f. Dissertação (Mestrado em Gestão estratégica e Qualidade) – Universidade Cândido Mendes, Rio de Janeiro, 2003.

32. VILAÇA, M. L. C. **Pesquisa e ensino: considerações e reflexões.** Revista do Curso de Letras da UNIABEU Nilópolis, v. I, Número 2, Mai. -Ago. 2010.

33. ZBYTIEWSKI, R.; BUSZEWSKI, B. **Characterizationof natural organicmatter (NOM) derived from sewagesludge compost. Part2. Multivariate techniques in the study of compost maturation**. Bioresource Technololgy, Arkansas, v. 96, p. 479-484, 2005.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

A QUÍMICA DOS MEDICAMENTOS E A AUTOMEDICAÇÃO ALIADOS AO ENSINO DE FUNÇÕES ORGÂNICAS

DRUG CHEMISTRY AND SELF-MEDICATION AWARENESS AS A TOOL IN TEACHING ORGANIC FUNCTIONS

SILVA, Daniele dos Santos[1]; YAMAGUCHI, Klenicy Kazumy de Lima[2*];

[1,2] Instituto de Saúde e Biotecnologia, Universidade Federal do Amazonas, Estrada Coari Mamiá, Espírito Santo, 69460-000, Coari, Amazonas, Brasil.
(fone: +55 97 3561 2363; fax: +55 92 99301 4041)

** Autor correspondente*
e-mail: klenicy@gmail.com

Received 13 July 2018; received in revised form 19 August 2018; accepted 25 August 2018

RESUMO

Uma das grandes dificuldades no ensino de química é a forma descontextualizada com que os conteúdos têm sido explicados em sala de aula. Buscando a contextualização como ferramenta pedagógica, o presente trabalho objetivou apresentar uma abordagem diferenciada no ensino de Química utilizando o ensino de funções orgânicas com a temática medicamentos, visando também, despertar os alunos sobre automedicação e os cuidados que devem ser tomados ao consumir medicamentos. O projeto foi executado na Escola Estadual Maria Almeida do Nascimento no município de Coari – AM, Brasil, envolvendo alunos do 3º ano do ensino médio. A metodologia utilizada foi de caráter qualitativo e quantitativo, e realizou-se em seis etapas: I Aplicação de um Questionário inicial, II apresentação do tema, III experimentação, IV explicação das reações, V avaliação do aprendizado, VI aplicação de um questionário final. Este trabalho permitiu aos alunos a obtenção do conhecimento sobre funções orgânicas a partir dos medicamentos, além de demonstrar à importância da contextualização nas aulas de Química e a utilização de metodologias diferenciadas para a construção do conhecimento científico e social, promovendo também, a sensibilização quanto à prática da automedicação.

Palavras-chave: *Contextualização, Química Orgânica, Automedicação.*

ABSTRACT

One of the greatest difficulties in teaching chemistry is the decontextualized form the content is taught in the classroom. This study aims to use contextualization as a pedagogical tool, presenting different approaches to teaching chemistry by using organic functions applied to pharmaceutical drugs and alerting students about the risks of self-medication, as well as underlining precautions that should be taken when consuming medication. The project was carried out at the Maria Almeida do Nascimento State School, in Coari, Amazonas – Brazil, with high school seniors. The study used both quantitative and qualitative methods carried out in six steps: I Application of initial questionnaire; II expository lectures and discussions of clinical cases; III experimentation; IV lecture explaining reactions; V learning assessment; VI application of final questionnaire. Results showed a positive effect on content comprehension. This research demonstrates the importance of contextualizing academic subjects in teaching chemistry and using different methodologies to build scientific and social knowledge. Additionally, it helped bring awareness to the practice of self-medication.
.

Keywords: Contextualization, Organic chemistry, Self-medication.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

Na atualidade, o ensino da Química tem sido alvo de bastante debate e reflexão, devido à grande importância e implicação que a mesma possui em nossa vida. A química é uma ciência em pleno desenvolvimento e suas aplicações podem ser observadas em muitos eventos comuns que se passam conosco e ao nosso redor, no entanto, nem sempre podem ser percebidos (CLEMENTINA, 2011).

De acordo com Chassot (1990), o ensino de Química deve facilitar a leitura do mundo, no entanto, isso não acontece por meio decorativo de fórmulas ou reações. É preciso que exista um ensino que desenvolva no aluno a capacidade de "ver" a química que ocorre nas múltiplas situações reais e que se apresentam modificadas a cada momento. Desta forma, fica evidente que a Química que se ensina deve ser ligada à realidade. Com isso, percebemos que temas químicos sociais são evidenciados, pelo interesse despertado nos alunos quando se trata de assuntos vinculados diretamente ao seu cotidiano.

Uma das grandes dificuldades no ensino de Química é a forma mecânica, tradicional e descontextualizada com que os conteúdos têm sido explicados em sala de aula. Geralmente no ensino de Química a prática em sala de aula consiste na maioria dos casos em transmitir os conceitos ilustrados no livro didático, deixando lacunas no processo de ensino e aprendizagem (FARY *et al.,* 2012). Isso ocorre por que muitos professores da área têm dificuldades de encontrar formas diferenciadas e contextualizadas para mediarem o conhecimento aos alunos, não incorporando práticas pedagógicas, seja porque não tiveram em sua formação inicial a oportunidade de preparar e explorar propostas diferenciadas de ensino, seja por não saberem como utilizá-las (PAZINATO *et al*., 2012).

Contextualizar a química não é promover uma ligação artificial entre o conhecimento e o cotidiano do aluno. Não é somente citar exemplos como ilustração ao final de algum conteúdo, mas que contextualizar é propor "situações problemáticas reais e buscar o conhecimento necessário para entendê-las e procurar solucioná-las" (BRASIL, 1999. p.93). Para Santos (2007), contextualizar pedagogicamente o conteúdo científico significa concretizar conteúdos curriculares de forma socialmente mais relevante. Assim, é necessário que as situações reais do dia a dia do estudante tenham um papel essencial na construção de conhecimentos e se configurem como ferramenta dinamizadora dos processos de construção e negociação de significados.

Nessa concepção, buscando qualificar profissionais que saibam de fato contextualizar o conhecimento ao cotidiano dos alunos de forma promissora, os cursos de licenciatura em química têm priorizado espaços para que o licenciado planeje, desenvolva e aprenda executar a prática pedagógica baseada nas atuais tendências de ensino, facilitando assim, a ação adequada para a futura docência (CHASSOT, 1990).

Estratégias de ensino têm como determinação dinamizar as metodologias de ensino e aprendizagem, com o intuito de tornar o ambiente de aprendizado um espaço de constante troca de experiências e conhecimentos, possibilitando uma ligação entre o conhecimento ensinado com o cotidiano do estudante e promovendo o desenvolvimento de habilidades e uma postura de investigação e compreensão acerca dos fenômenos químicos (CARNIEL *et al*., 2013).

Diante das diversas estratégias que podem ser utilizadas nas aulas de química, destaca-se a utilização de atividades lúdicas, como é abordado no trabalho de Silva (2014), que utiliza jogos lúdicos como recurso didático para o ensino de funções orgânicas, também a experimentação que é utilizada no trabalho de Radetzke e Uhmann (2017), para significar conceitos relacionados à densidade dos gases, bem como, a contextualização, interdisciplinaridade, entre outras metodologias. É importante destacar, que dentre as metodologias citadas, a experimentação coopera bastante para o ensino de Química, pois é uma ferramenta de ensino que desperta um grande interesse por parte dos alunos, independente do nível de escolarização (SCHNETZLER, 2002).

De acordo com Pazinato *et al.* (2012) os alunos costumam atribuir à experimentação um caráter motivador, lúdico, essencialmente vinculado aos sentidos. Ainda, nesse sentindo Delizoicov, Angotti (2000, p.22) afirmam que as experiências despertam em geral um grande interesse nos alunos, além de proporcionar uma situação de investigação. Quando planejadas levando em conta esses fatores, elas proporcionam momentos particularmente

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ricos no processo de ensino e aprendizagem.

Dessa maneira, percebe-se que a sala de aula se estabelece como um ambiente de socialização de conhecimentos, onde ocorre a construção de novas experiências. É nesse espaço que ocorre o processo de ensino e aprendizagem construído ativamente pelo aprendiz, através de atividades que possibilitem não somente o crescimento e aprendizado relacionado a conceitos e utilizações técnicas, mas também na aplicação de diversos conceitos utilizados no dia a dia (CARNIEL, *et al*., 2013).

A química orgânica está associada a praticamente todos os aspectos do cotidiano: medicamentos, roupas, alimentos, combustíveis, cosméticos, entre outros. No entanto, essa relação não vem sendo explorada no ambiente educacional em grande parte das escolas, pois a ênfase dada geralmente é na transmissão de conteúdos, deixando de lado o desenvolvimento de habilidades investigativas dos alunos (SILVA & SÁ, 2016). O fato é que essa disciplina é correlacionada com a vida, no entanto, verifica-se que os professores de ensino médio ainda possuem muitas dificuldades em contextualizar os conteúdos dessa disciplina em suas aulas, sendo que o ensino de química deve oferecer subsídios para que os alunos compreendam o mundo que os cerca (PAZINATO, *et al*., 2012).

Paralelamente o consumo de medicamentos sem orientação médica (automedicação) vem se tornando um hábito no cotidiano dos brasileiros, segundo Richetti e Filho (2014) nas últimas décadas, tem aumentado significativamente. Esse é um tema social controverso, de grande repercussão nos veículos de comunicação. De acordo com Costa *et al*. (2011), a automedicação é uma prática comum, no entanto, pode ocasionar agravos e mascaramento de doenças, interações medicamentosas e intoxicações. Desta forma, o presente trabalho, evidencia como o tema "Automedicação" nas perspectivas pedagógicas pode ser explorado no ensino de Química de forma promissora.

No trabalho realizado por Garcia *et al.* (2016), é destacado que os medicamentos são preparados por uma série de substâncias e um de seus componentes é o responsável pelo seu efeito no organismo, o que chamamos de princípio ativo. E que é notável a necessidade de intervenções constantes que contribuam principalmente para a sensibilização da correta utilização e descarte de medicamentos.

Nessa perspectiva, a temática proposta pode auxiliar no ensino de química e ao mesmo tempo na sensibilização, despertando os estudantes quanto ao uso adequado de medicamentos aos cuidados que se deve ter ao consumi-los e aos perigos ocasionados pela automedicação. A utilização deste tema no estudo da química orgânica, não implica apenas na identificação das funções orgânicas, mas permite entender que elas estão presentes nas substâncias que constituem o medicamento e que fazem parte ativamente da nossa vida.

Neste trabalho objetivou-se demonstrar a importância da contextualização nas aulas de química, aliando a temática à química dos medicamentos ao ensino do conteúdo de funções orgânicas, levando em conta que abordagens experimentais auxiliam na construção do conhecimento científico. Nessa perspectiva, foi realizada uma atividade experimental de identificação de grupos funcionais, utilizando medicamentos como reagentes. Considerando o fato de que, além de ser um tema rico conceitualmente, permite compreender a composição dos medicamentos e saber que o mesmo é constituído por diversas substâncias químicas que apresentam em sua estrutura inúmeras funções orgânicas, além de contribuir para a formação cidadã dos alunos.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi executado na Escola Estadual Maria Almeida do Nascimento, localizada na Estrada Coari-Mamiá, s/n, Bairro Espírito Santo, Coari – AM, Brasil.

Envolvendo alunos da turma do 3º ano "2" do ensino médio no turno noturno, a amostra foi composta por 33 educandos. O trabalho foi desenvolvido durante quatro aulas.

A metodologia utilizada consistiu em uma pesquisa em campo de caráter qualitativo e quantitativo por meio da análise de dados a partir de questionário inicial composto por 8 perguntas objetivas e questionário final composto por 10 perguntas, através de explicação, experimentação e avaliação do aprendizado, contextualizando o tema proposto com o ensino de funções orgânicas e o cotidiano dos alunos. O projeto foi realizado em seis etapas.

I. Questionário Inicial: foi aplicado um

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

questionário inicial composto por 8 perguntas elementares sobre medicamentos e funções orgânicas. Com a perspectiva de diagnosticar os conhecimentos prévios dos alunos em relação à temática em foco.

II. Apresentação do Tema: Em seguida foi introduzido o conteúdo através de uma aula expositiva e dialogada, onde foi abordado sobre o tema, primeiramente conceituando os termos: medicamentos, remédios, princípios ativos, automedicação e os cuidados que deve-se ter ao consumir medicamentos. Após, para introduzir a química ao tema, os alunos foram indagados sobre a composição dos medicamentos, e em seguida foi esclarecido que embora os medicamentos possam ser compostos por moléculas inorgânicas e orgânicas, a apresentação daria ênfase apenas aos medicamentos compostos por moléculas orgânicas. Daí então foi explanado de forma contextualizada a explicação do conteúdo de funções orgânicas. Posteriormente, ao finalizar a aula expositiva foi aplicado um exercício, que consistiu em identificar grupos funcionais em algumas moléculas orgânicas com o auxilio de uma tabela de funções orgânicas.

III. Experimentação: O experimento consistiu na realização de testes para identificação das classes orgânicas. Nesses testes os medicamentos foram utilizados como amostras reais para a identificação das funções orgânicas presentes nas estruturas químicas dos seus princípios ativos. Os materiais utilizados nos experimentos eram simples, o que facilitou sua reprodução pelos alunos. Foram utilizados: béqueres, conta-gotas, tubos de ensaio, pipeta de Pasteur e os reagentes permanganato de potássio 1M, cloreto férrico 3%, bicarbonato de sódio 1M; e os seguintes medicamentos: Codaten®, Tylenol® e Aspirina® (Figura 1).



Figura 1. *Medicamentos e reagentes utilizados para a execução do experimento.*

Primeiramente a turma foi dividida em 5 grupos, em seguida foi entregue aos mesmos o roteiro da prática experimental. O procedimento foi realizado de acordo com a tabela 1. Baseado no trabalho de Pazinato *et al*. (2012), foram realizadas as seguintes reações: Para identificação do alceno foi realizada a reação de oxidação do medicamento codaten com o permanganato de potássio (KMnO4), nessa reação foi possível observar o descoramento da solução violeta de permanganato de potássio pela reação com a dupla ligação do alceno, originando um precipitado castanho devido à formação do óxido de manganês IV (MnO2). Essa reação de identificação é conhecida como Teste de Bayer (Soares et al., 1988). Para a identificação do fenol, realizou-se a reação entre o paracetamol e cloreto férrico ($FeCl_3$), formando complexos coloridos, sendo esta uma das reações que identificam esses compostos, a coloração do complexo formado varia do azul ao vermelho, dependendo do solvente. Em seguida, foi possível identificar os ácidos carboxílicos através da reação da solução aquosa de aspirina com o bicarbonato de sódio nessa reação, ocorreu à formação de sal, água e o desprendimento de gás carbônico. Esse último permitiu a visualização da ocorrência da reação.

IV. Explicação das Reações: Ao final da prática experimental foram explicadas as reações ocorridas na experimentação, facilitando o entendimento dos alunos, esclarecendo dúvidas, proporcionando assim, a construção de um conhecimento mais significativo.

V. Avaliação do Aprendizado: Nesta etapa foi avaliado o conhecimento assimilado pelos alunos, visando à reconstrução dos conhecimentos sobre o tema, os adquiridos pela explicação e os assimilados e relacionados pelos discentes, através da experimentação. A avaliação do aprendizado ocorreu através de um exercício de fixação contendo 4 questões, correspondentes as moléculas orgânicas dos princípios ativos dos medicamentos utilizados no experimento, o exercício foi realizado individualmente sem consulta, de forma que cada estudante teve que identificar os grupos funcionais presentes nos medicamentos.

VI. Questionário Final: para encerrar foi aplicado o questionário final visando verificar a aceitação da proposta e evolução dos alunos sobre o tema.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Os primeiros resultados foram obtidos através da análise do questionário inicial. Este questionário serviu como base para identificar os conhecimentos prévios e a concepção dos alunos acerca dos medicamentos e do conteúdo de funções orgânicas.

Corroborando com os autores Chaer, Diniz e Ribeiro (2011), que destacam que o uso de questionário é uma técnica bastante pertinente de ser utilizada, visto que permite tratar de questões/problemas empíricos que envolvam opinião, percepção, posicionamento e preferências dos pesquisados.

Ao serem indagados sobre a definição de medicamentos e remédios, verificou-se que 51,5% dos alunos responderam que ‘’Medicamentos são substâncias ou preparações que se utilizam como remédio, elaborados em farmácias e atendendo especificações técnicas legais e remédio é um termo amplo, aplicado a todos os recursos terapêuticos para combater doenças ou sintomas’’. Enquanto 6,1% responderam que ‘’Medicamento é um produto caseiro, com finalidade curativa e remédio é uma substância utilizada para obter cura ou alívio’’, e 42,4% responderam que ‘’Medicamento refere-se a todos os recursos terapêuticos para combater doenças ou sintomas e remédios são substâncias utilizadas como medicamentos, elaborados em farmácias ou indústrias farmacêuticas e atendendo especificações técnicas legais’’. A o analisar os dados obtidos, percebe-se que a maioria dos alunos possuem um conhecimento razoável sobre medicamentos.

Na segunda questão, quanto ao uso de medicamentos sem a consulta prévia de um médico, 66,7% responderam ‘’sim’’, 24,2% ‘’não’’ e 9,1% ‘’parcialmente’’. Nessa questão verificam-se dados preocupantes em relação à prática de consumir medicamentos sem a consulta e prescrição médica, ou seja, a automedicação. Esse quadro vem sendo comumente descrito nas pesquisas relatadas. De acordo com Arraias *et al*. (1997), o Brasil é um dos países que melhor aderiram esse costume da automedicação, na década de 90 cerca de 80 milhões de brasileiros eram adeptos a essa prática. Sendo o motivo de diversos casos de intoxicação, pois o fato é que a população não conhece nem o princípio químico dos medicamentos e nem o número de óbitos ocasionados pela automedicação. Confirmando com esse dado, Abifarma (2011) relata que cerca de 20 mil casos de automedicação geram complicações e levam a óbito. No entanto, como é destacado no trabalho de Moura (2016), o fato de a automedicação ser perigosa não à torna inviável, torna necessária a educação.

O ensino nas escolas não precisa ser direcionado apenas ao conteúdo que tem nos livros e falar apenas o que a ciência já comprovou, dentro do ambiente escolar os jovens e adolescentes têm que aprender a lidar com a realidade, saber agir em determinadas situações. Com isso, se faz necessário abordar e discutir assuntos relevantes aos contextos vivenciados, visando prevenir os educandos quanto aos riscos ocasionados pelo uso irresponsável dos medicamentos. Dessa forma, as associações dos conteúdos teóricos podem facilitar o processo de ensino-aprendizagem.

Nesse sentido, ao avaliar a presença da Química associada ao assunto de medicamentos, 97% dos alunos responderam que os medicamentos são substâncias químicas. Em seguida, os alunos foram indagados sobre a composição química de que são formados os medicamentos, onde 6,1% responderam que os mesmos são constituídos por ‘’moléculas inorgânicas’’, 36,4% por ‘’moléculas orgânicas’’ e 57,5% por ‘’moléculas orgânicas e inorgânicas’’.

Na questão seguinte foi perguntado aos educandos se há relação entre o conteúdo de funções orgânicas com a temática medicamentos e 72,7% responderam que ‘’sim’’, 18,2% ‘’não’’ e 9,1% ‘’parcialmente’’.

Avaliando as classes das substancias, 48,5% dos alunos responderam que conhecem alguma classe, no entanto somente alguns alunos exemplificaram, sendo os hidrocarbonetos os mais citados e 51,5% responderam não conhecer. Em relação a metodologia, os educandos foram indagados se gostariam de estudar os conteúdos de química orgânica de forma diferenciada e contextualizada, 90,9,% responderam ‘’sim’’ e 9,1% ‘’não’’. A seguinte questão pedia a opinião dos alunos quanto à utilização da temática dos medicamentos, como ponto de partida para o ensino de química orgânica, 81,8% responderam ‘’sim’’ e 18,2% ‘’não’’.

Após a aplicação do questionário, iniciou-se a apresentação do tema proposto, através de uma aula expositiva e dialogada, buscando a interação dos alunos, durante a

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

aula foi abordado sobre os termos: medicamentos, remédios, princípios ativos, automedicação e os cuidados que se deve ter ao consumir medicamentos. Com relação a este momento percebeu-se que os alunos se interessaram pelo tema, pois houve discussões sobre a diferença entre medicamentos e remédios e principalmente questionamentos e relatos sobre a prática de automedicação. No trabalho de Freitas *et al*. (2016), é destacado que o ensino de ciências tem se tornado cada dia mais complexo quanto a sua abordagem na tentativa de promover uma aprendizagem mais efetiva dos conteúdos, fato que exige do professor reflexão quanto a sua pratica docente, buscando a utilização de diferentes estratégias de ensino, como a abordagem de conteúdos químicos por meio da relação destes com algum contexto social em que se encontram inseridos, nesse caso, os medicamentos. Dessa forma, foi um momento bem agradável e produtivo.

Em seguida, para introduzir o conteúdo de funções orgânicas ao tema, os alunos foram indagados sobre a composição dos medicamentos, sendo que a maioria não soube responder. Após, foi esclarecido que embora os medicamentos possam ser compostos por moléculas inorgânicas e orgânicas, a apresentação daria ênfase aos medicamentos compostos apenas por moléculas orgânicas.

Deu-se prosseguimento a aula apresentando aos educandos algumas funções orgânicas e em seguida foi mostrada algumas moléculas contidas em medicamentos, como ácido ascórbico, paracetamol ácido acetilsalicílico e codeína, que apresentam alguns grupos funcionais na sua estrutura molecular, como alceno, álcool, éter, amina, amida, enol, éster, fenol e ácido carboxílico. Daí foi explanado de forma contextualizada o conteúdo de funções orgânicas através dos medicamentos, evidenciando apenas a identificação de grupos funcionais em moléculas orgânicas, ressaltando que não foi tratado sobre nomenclatura, até mesmo pelo curto espaço de tempo.

Ao final da aula, os alunos receberam uma lista de exercícios e uma tabela contendo alguns grupos funcionais, a atividade consistia em identificar classes orgânicas presentes em algumas moléculas, percebeu-se que os alunos conseguiram reconhecer as classes orgânicas corretamente, mas sempre consultando a tabela.

Na quarta etapa, foi realizada uma prática experimental, que consistia em testes de identificação de grupos funcionais presentes no princípio ativo dos medicamentos, os quais foram executados pelos próprios alunos, de acordo com a figura 2.



Figura 2. *Alunos realizando a prática experimental.*

Os discentes demonstraram bastante interesse e curiosidade, todos os grupos conseguiram realizar os testes com sucesso e visualizar as reações que identificavam a presença das classes orgânicas nos referidos medicamentos. Embasando no trabalho realizado por Radetzke e Uhmann (2017), a experimentação é considerada uma ferramenta pedagógica importante para o ensino de Ciências/Química, de forma que possibilita a participação do aluno e a posição do professor como mediador do processo de construção e significação dos conhecimentos.

Ao finalizar o experimento realizou-se a próxima etapa, que consistiu na explicação das reações ocorridas, visando à compreensão dos alunos, e tirando as dúvidas, essa etapa foi bem breve, porém precisa.

Em seguida, foi realizada a etapa referente à avaliação do aprendizado, onde os alunos receberam uma lista de atividades contendo 4 questões sobre as classes detectadas (apêndice), sendo estas objetivas e de múltipla escolha, referente as moléculas dos princípios ativos: ácido acetilsalicílico, codeína, paracetamol e ácido ascórbico, nos quais deveriam ser identificados os grupos funcionais presentes, mas agora sem consultar material nenhum, apenas os próprios conhecimentos adquiridos durante o projeto.

Os dados obtidos através da avaliação mostraram que 66,7% dos alunos acertaram todas as questões, 18,5% acertaram três questões e 14,8% acertaram duas questões.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

De forma geral, verificou-se um bom desempenho dos educandos, pois os mesmos conseguiram identificar as classes orgânicas corretamente. Os que não conseguiram, demonstraram dificuldades para reconhecer o grupo funcional alceno e acabaram confusos em relação a amina e amida, afirmando serem grupos funcionais idênticos, e também pela estrutura das moléculas aparentarem serem mais complexas, se comparadas as moléculas de ácido acetilsalicílico e paracetamol.

Em seguida, foi aplicado o questionário final (Tabela 2), composto por 10 questões, sendo 5 questões idênticas ao questionário inicial e 5 adicionais referentes a execução do projeto, a prática experimental, aceitação e aprendizagem adquirida através do trabalho desenvolvido.

Tabela 2: *Dados obtidos no questionário final.*

Questões	Alternativas	%
1. O que são medicamentos e remédios?	Acertos	63
	Erros	37
2. Você acha que medicamentos são substâncias químicas?	Sim	100
	Não	-
3. De que são formados os medicamentos?	Acertos	77,8
	Erros	22,2
4. Você acha que há relação entre o conteúdo de funções orgânicas com a temática medicamentos?	Sim	88,9
	Não	7,4
	Parcialmente	3,7
5. Você conhece alguma classe orgânica?	Sim	66,7
	Não	33,3
6. É viável utilizar a temática medicamentos aplicado ao ensino de química orgânica?	Sim	85,2
	Não	14,8
7. Você acredita que o projeto cumpriu com o objetivo de promover uma aprendizagem de forma mais clara e motivadora?	Sim	96,3
	Não	3,7
8. O experimento realizado contribuiu para uma melhor assimilação do conteúdo?	Sim	100
	Não	-
9. Ao longo do projeto você adquiriu conhecimentos importantes que serão aplicados no dia-a-dia?	Sim	92,6
	Não	7,4
10. A relação entre os conteúdos de química orgânica com medicamentos causou alguma intervenção na sua aprendizagem?	Sim	81,5
	Não	18,5

Fonte: Autora

Entre os relatos mais frequentes da nona questão, destacam-se os listados abaixo:

Aluno 1: Procurar o médico antes de usar medicamentos.
Aluno 2: Que devemos ter cuidado a consumir medicamentos.
Aluno 3: Não se automedicar, pois é prejudicial a saúde e pode levar até a morte.

Através desses relatos, percebe-se o quão importante foi tratar sobre a automedicação, pois pelos menos os alunos conseguiram entender os riscos e o cuidado que se deve ter ao consumir medicamentos.

Na décima questão, dos alunos que responderam ‘’sim’’, alguns justificaram e outros não, entre os alunos que justificaram, se destacam os seguintes relatos:

Aluno 1: Sim, pois entendi a composição dos medicamentos.
Aluno 2: A relação foi interessante pois nos medicamentos existe a presença de funções orgânicas.
Aluno 3: Aprendi sobre os medicamentos e grupos funcionais de forma diferente.

Analisando esses relatos, fica claro que os alunos conseguiram entender a relação entre a temática proposta e construir um conhecimento significativo. Enfatizando que o ensino de química orgânica foi uma consequência da contextualização do ensino de automedicação e a composição dos medicamentos, através das moléculas de alguns princípios ativos de medicamentos, desta forma, foi possível mostrar a presença dessas substâncias no dia a dia do aluno (MOURA, 2016).

A apresentação do tema foi de suma importância, pois percebeu-se que os alunos se interessaram pela temática proposta, houve uma interação e participação dos educandos, principalmente no que tange a automedicação. Na contextualização acerca das moléculas orgânicas presentes nos medicamentos e funções orgânicas, os alunos de início, apresentaram algumas duvidas quanto ao tipo de funções orgânicas que foram mostradas a eles, mas ao decorrer da aula, foi possível esclarecer às dúvidas e fazer com que eles reconhecessem as funções orgânicas apresentadas, de uma forma bem agradável e participativa. Então, ao analisar está etapa, podemos perceber que o ensino de química orgânica, tem que ter finalidades para os alunos, pois, de acordo com Moura (2016), não é produtível para os alunos entrarem em uma sala de aula e serem submetidos a aprender

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

teorias e fazerem provas, quando na verdade eles não entenderam a verdadeira essência dos conteúdos de química estudados. Evidenciando, que tudo que é estudado em sala de aula, todas as práticas feitas e conteúdos ministrados devem ser úteis para algum fim, sendo esse a realidade dos alunos.

Em relação à prática experimental realizada, foi possível explicar para os alunos o que eram reações químicas de uma forma simplificada, através dos testes de detecção de classes orgânicas presentes nos medicamentos. A partir desta prática, assim como, Santos *et al.* (2014), constatou-se que os medicamentos são uma importante ferramenta para facilitar o processo ensino aprendizagem de funções orgânicas, pois os mesmos apresentam em sua estrutura compostos que podem ser identificados através de reações químicas. A partir dos testes de detecção, foi possível identificar os três grupos funcionais: fenol, alceno e ácido carboxílico. Além de promover uma interação e participação ativa por parte dos alunos.

Para o processo de ensino e aprendizagem foram utilizadas as metodologias: ativa, experimental, além da observação e contextualização. Utilizando essas estratégias de ensino, foi possível perceber a motivação dos alunos durante a realização do trabalho, principalmente nas atividades práticas, onde os discentes demonstraram bastante entusiasmo e curiosidade, possivelmente esse comportamento dos mesmos ocorreu devido às poucas aulas práticas realizadas na escola. Além disso, em concordância com Ceregatti *et al.* (2017), a motivação também pode estar atrelada à possibilidade de os alunos participarem ativamente da aula, ou seja, os próprios estudantes executaram os experimentos e, consequentemente, ficaram curiosos e envolvidos com as atividades propostas. Desta forma, as metodologias utilizadas, apresentaram ser eficientes e contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho, bem como, a construção do conhecimento de química sobre as funções orgânicas, além de permitir aos alunos, a aplicação do conhecimento adquirido na sala de aula no cotidiano.

Na abordagem realizada sobre a automedicação, foi possível conhecer a composição dos medicamentos, destacando os riscos da automedicação. Desta forma, verificou-se que o presente trabalho propiciou aos alunos uma obtenção de conhecimento mais crítico sobre o tema, promovendo a sensibilização quanto esta prática. Nessa concepção, é destacado no trabalho de Moura (2016), a importância de ensinar para o aluno as causas e efeitos de tudo o que está no seu cotidiano e que parte de explicações químicas tanto para materiais de fácil acesso e que não causa nenhum risco aos alunos, quanto materiais que podem causar algum risco, como por exemplo, os medicamentos, que dependendo da maneira que é usado pode ser benéfico ou maléfico.

Desta maneira, é preciso discutir o tema em sala de aula destacando que a utilização de medicamentos inconsciente e indiscriminada pode ocasionar graves problemas como interações medicamentosas, que são alterações nos efeitos de um medicamento em razão da ingestão simultânea de outro, podendo intensificar ou diminuir a atuação de um medicamento, contribuindo para agravar os efeitos colaterais (FERREIRA *et a*l., 2015). Neste sentido, Leite *et al.* (2008), afirma que é preciso sensibilizar as pessoas, que estas interações medicamentosas não envolvem só as drogas que precisam de receita médica, mas também ocorrem com medicamentos de venda livre, como é o caso de medicamentos como a aspirina, antiácidos e descongestionantes. Nessa perspectiva, concordamos com Richetti e Filho (2014), que os temas sociais proporcionam possibilidades de abordagens mais dinâmicas dos conteúdos e evidenciam a inter-relação entre a informação química e o contexto social, pois assim, o estudante teria condições de pensar sobre determinadas questões, interpretá-las e propor uma resposta fundamentada e mais adequada ao problema apresentado.

CONCLUSÕES:

Pode-se evidenciar a contribuição da temática proposta para assimilação do conteúdo abordado, permitindo que os alunos adquirissem conhecimento sobre funções orgânicas, a partir dos medicamentos.

Diante do exposto, o trabalho desenvolvido foi fundamental para a contextualização da temática que estava sendo abordada, pois além de apresentar brevemente sua relação com a química orgânica, ainda proporcionou aos alunos compreender alguns cuidados necessários quanto à utilização dos

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

medicamentos e a oportunidade de aprendizado de forma diferenciada, correlacionando a química com o seu cotidiano.

Considerando o fato de que a aprendizagem não deve estar vinculada apenas ao que se estuda na sala de aula, foi possível associar o tema medicamentos como ponto de partida para o ensino de funções orgânicas, sendo uma ferramenta promissora para a contextualização do ensino, utilizando também abordagens experimentais no processo de ensino e aprendizagem.

As atividades contribuíram não somente para a construção do conhecimento científico, mas também para a construção de conhecimentos sociais, como a sensibilização quanto à prática da automedicação e a maneira correta de utilizar os medicamentos, bem como, o conhecimento da composição e aspectos importantes sobre o tema proposto.

AGRADECIMENTOS:

Ao curso de Licenciatura em Ciências-Biologia e Química oferecido pela Universidade Federal do Amazonas/Coari e a Escola Estadual Maria Almeida do Nascimento, pela oportunidade dada para desenvolver este trabalho.

REFERÊNCIAS:

1. ABIFARMA. *Os perigos da automedicação*. Disponível em <http://pfarma.com.br/noticiasetorfarmaeutico/estudo-e-pesquisa/153-os-perigos-da-automedicacao.html>. Acesso em Maio de 2018.

2. ARRAIS P. S. D. COELHO H. L. L., BATISTA M. C. D. S., CARVALHO M. L., RIGHI, R. E., ARNAU J. M. Perfil da automedicação no Brasil. Revista de Saúde Pública, v. 31, n. 1, p. 71-77, 1997.

3. BRASIL. Parâmetros Curriculares Nacionais (PCN) – Ensino Médio; Ministério da Educação, 1999.

4. CARNIEL, V. L.; FARIAS, C.; MAROZZIN, C.; BOTH, J.; PELLIZZARI, R. R.; CUNICO, N.S.; BEDIN, T. M. Reconhecendo os grupos funcionais da Química Orgânica através da contextualização do estudo dos medicamentos. 33º EDEQ, Universidade de Passo Fundo – UPF, 2013.

5. CEREGATTI, Thayara; NACK, Fernanda C.; ARAUJO, Luciana de; OLIVEIRA, Brenno R.M. As Cores da Química: Uma proposta para Contextualizar e Introduzir Conhecimentos Químicos no Ensino Fundamental. REDEQUIM, v.3, n.2, p.115-128, 2017.

6. COSTA. A. C.; COSTA, S. C.; MOREIRA, V. da P.; COSTA, L. C.; CAVALCANTE, A. M. A automedicação como tema gerador para o ensino de ciências –um enfoque no ensino da Química. In: CONGRESSO NORTE-NORDESTE DE QUÍMICA, 4.,2011.*Anais...*Disponível em:www.annq.org/congresso2011/arquivos/1300408099.pdf. Acesso em: 6 jun. 2018.

7. CHAE, G. DINIZ, R.R.P.; RIBEIRO, E.A.A. Técnica do questionário na pesquisa educacional. Evidencia (Araxa), v.7, p. 251-266, 2011.

8. CHASSOT, Áttico Inácio. A educação no ensino da química. Ijuí: Ed. Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, 1990.

9. CLEMENTINA, Carla Marli. A Importância do Ensino da Química no Cotidiano dos Alunos do Colégio Estadual São Carlos do Ivaí. São Carlos do Ivaí-PR, 2011, p.1-49.

10. DELIZOICOV, D.; ANGOTTI, J. A. Metodologia do Ensino de Ciências. São Paulo: Cortez, 2000.

11. DIAS FILHO, C.R. e ANTEDOMENICO, E. A perícia criminal e a interdisciplinaridade no Ensino de Ciências Naturais. Química Nova na Escola, v. 32, n. 2, p. 67-72, 2010.

12. FARY, Bruna Adriane; SOUZA, Eloiza de; SOATO, Alessandra Maziero Lalin; TONIN, Lilian Tatiane Dusman; BARON, Alessandra Machado. Química dos Medicamentos: Ensino de Funções

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Orgânicas Aliado à Conscientização Social. Disponível em:<http://www.sinect.com.br/anais2012/html/artigos/ensino%20qui/7.pdf>. Acesso em Maio de 2018.

13. FERREIRA, J. de J.; SILVA, T. P. da; ROCHA, J. S.; SILVA, G. N. da; TRAJANO, L. L. A química dos medicamentos e as funções orgânicas: avaliação de uma proposta didática auxiliada pelo uso das tecnologias da informação e comunicação. XIII congresso internacional de tecnologia e educação, 2015. Disponível em:<http://www.pe.senac.br/congresso/anais/2015/arquivos/pdf/comunicacao-oral>. Acesso em Junho de 2018.

14. FREITAS, T. L.; DA COSTA, M. A.; FREITAS, F. C. R. M.; OLIVEIRA, T. de F.; MORAES, L. M.; FIELD'S, K. A. P.; REZENDE, G. A. A.; SANTOS, R. G. Cosméticos como temática para a abordagem das funções orgânicas no ensino de Química. Tchê Química, v.13, n. 25, 2016.

15. GARCIA, Denis da Silva; GARCIA, Fernanda Hart; ALMEIDA, Angela Regina; SANTOS, Carla Zimmermann Tuzin; MOURA, Jaíne Santos de. Automedicação e Descarte de Medicamentos: Conscientizando a partir da Interação com a Comunidade. REDEQUIM, p.100-114, 2016.

16. LEITE, S. N.; VIEIRA, M.; VEBER, A. P. Estudos de utilização de medicamentos: uma síntese de artigos publicados no Brasil e América Latina. Ciência e Saúde coletiva. v.13, p. 793-802, 2008.

17. MOURA, Letícia Souza. O uso de uma sequência didática para trabalhar a automedicação e a química orgânica no ensino de química. Universidade de Brasília: Instituto de Química. Brasília-DF, 2016.

18. RADETZKE, Franciele Siqueira; UHMANN, Rosangela Inês Matos. O uso da prática experimental para significar conceitos relacionados à Densidade dos gases. REDEQUIM, v.3, n. 2, 2017.

19. RICHETTI, Graziela Piccoli; FILHO, José de Pinho Alves. Automedicação no Ensino de Química: uma proposta interdisciplinar para o Ensino Médio. Educação Química, 2014.

20. SANTOS, K.A; SILVA, E.L.R.; GAIA, C.T.A.; NASCIMENTO, G.T.A.; SOUZA, C.A. Medicamentos: uma ferramenta do cotidiano que viabiliza a experimentação para tornar acessível e significativo o ensino de química orgânica. 54º CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, Natal-Rio Grande do Norte, 2014.

21. SANTOS, W. L. P. Contextualização no ensino de ciências por meio de temas cts em uma perspectiva crítica. Revista Ciência & Ensino, v. 1, número especial, nov, 2007.

22. SCHNETZLER, R. P. A Pesquisa em Ensino de Química no Brasil: Conquistas e Perspectivas. Química Nova, v. 25, s1, p.14, 2002.

23. SILVA, Jéssica Souza. Uma Proposta Lúdica para o Ensino de Funções Orgânicas. Universidade de Brasília, Planaltina-DF, 2014.

24. SILVA, Elizete Terezinha; SÁ, Roberto Araújo. A resolução de problemas: uma estratégia didática para abordagem contextualizada de conteúdos de química orgânica no ensino médio. IV CONEDU, 2016.

25. SOARES, B.G.; SOUZA, N.A. e PIRES D.X. *Química orgânica*: teoria e técnicas de preparação, purificação e identificação de compostos orgânicos. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988.

26. PAZINATO, M, S.; BRAIBANTE, H, T, S; BRAIBANTE, M, E, F.; TREVISAN, M, C.; SILVIA, G, S. Uma Abordagem Diferenciada para o Ensino de Funções Orgânicas através da Temática Medicamentos. Química Nova na Escola. São Paulo, v. 34, n.1, p. 21 – 25.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 1: *Procedimento Experimental*

	Reagente 1	**Reagente 2**	**Observação**
Identificação de alceno	2 mL de Codaten®	5 gotas de permanganato de potássio 1 M	Alteração da cor púrpura para marrom
Identificação de fenol	2 mL de Tylenol®	5 gotas de cloreto férrico 3%	A solução apresentou coloração avermelhada
Identificação de ácido carboxílico	Solução aquosa de Aspirina®	5 gotas de bicarbonato de sódio	Observou-se o desprendimento de gás

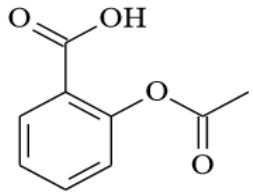
Fonte: Autora

Apêndice 1: *Atividade aplicada aos alunos para avaliação do aprendizado.*

ATIVIDADE

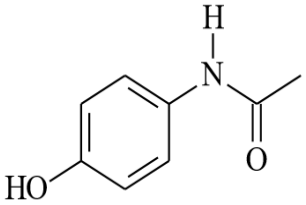
1. A Aspirina, utilizada como anti-inflamatório, antipirético e analgésico tem como composição química principal a molécula abaixo. Você seria capaz de identificar quais os grupos funcionais orgânicos que existem nesta molécula?

a) álcool, anel aromático.
b) éster, alcino, anel aromático.
c) ácido carboxílico, éster.
d) amina, éster.
e) amida, alceno, anel aromático.



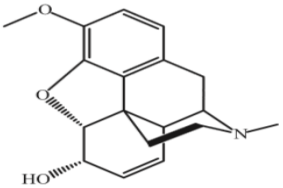
2. O Paracetamol é um medicamento com efeito antitérmico e analgésico que reduz a febre e promove o alívio temporário de dores leves a moderadas, associadas a gripes e resfriados comuns e tem como composição principal a molécula abaixo. Quais os grupos funcionais presentes nesta molécula?

a) Alceno e álcool.
b) Éter e amina.
c) Álcool, enol e éster.
d) Fenol e amida.



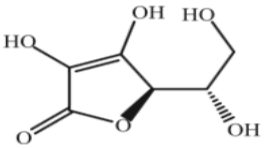
3. O Codaten é um analgésico que age sobre o sistema nervoso central inibindo a chegada dos impulsos dolorosos, diminuindo assim qualquer tipo de dor que o indivíduo esteja sentindo e tem como composição principal a molécula abaixo. Quais os grupos funcionais presentes nesta molécula?

a) Alceno, álcool, éter e amina.
b) Éter, amina e álcool.
c) Álcool, enol e éster.
d) Fenol, éster, amida e álcool.



Codeína

4. O Energil C é um suplemento nutricional de ácido ascórbico (Vitamina C), que é uma vitamina hidrossolúvel administrada por via oral. Tem como composição principal a molécula abaixo. Identifique quais os grupos funcionais existentes



Ácido ascórbico

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

nesta molécula?

a) Álcool, enol e éster.
b) Éter, enol e amina.
c) Álcool, enol e éter.
d) Fenol, éter e amida.

Fonte: (Fary *et al*., 2012).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INFLUÊNCIA DE ALGUNS PARÂMETROS NOS RESULTADOS DE ANÁLISES TÉRMICAS DO ÁLCOOL POLIVINÍLICO

INFLUENCE OF SOME PARAMETERS IN THE RESULTS OF THERMAL ANALYSIS OF POLYVINYL ALCOHOL

BORGES, Mariana Fornazier[1*]

[1] Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Química, Av João Naves de Ávila, 2121, cep 38400-902, Uberlândia – MG, Brasil
(fone: +55 34 3226 6372)

** Autor correspondente*
e-mail: mariana-for@hotmail.com

Received 23 August 2018; received in revised form 24 August 2018; accepted 10 September 2018

RESUMO

O presente trabalho busca demonstrar por meio de uma série de experimentos como os parâmetros taxa de aquecimento, tipo de panelinha e forma física da amostra, podem influenciar os aspectos qualitativos e quantitativos dos resultados das análises térmicas de TGA e DSC. Para tal, o álcool polivinílico, um polímero sintético foi usado como modelo e seu comportamento térmico foi discutido mediante os resultados obtidos pelas curvas termogravimétricas (TGA) e de DSC, evidenciando o efeito da alteração de cada parâmetro, como o deslocamento na faixa de temperatura em que ocorrem os eventos térmicos nas curvas de TGA, relacionado a alteração da forma física da amostra; a intensificação dos picos de DSC devido ao aumento da taxa de aquecimento, a alteração no fluxo de calor mediante troca da panelinha e mascaramento de alguns eventos como a temperatura de transição vítrea

Palavras-chave: *Termogravimetria, Calorimetria Exploratória Diferencial, Parâmetros*

ABSTRACT

The present work seeks to demonstrate through a series of experiments such as the parameters heating rate, type of stand and physical form of the sample, can influence the qualitative and quantitative aspects of the results of the thermal analyzes of TGA and DSC. To do this, polyvinyl alcohol, a synthetic polymer was used as a model and its thermal behavior was discussed by the results obtained by the thermogravimetric (TGA) and DSC curves, showing the effect of the alteration of each parameter, such as the displacement at the temperature at which the thermal events occur in the TGA curves, related to the alteration of the physical form of the sample; the intensification of the DSC peaks due to the increase of the heating rate, the change in the heat flow by changing the stand and masking some events such as the glass transition temperature.

Keywords: *Thermogravimetry, Differential Scanning Calorimetry, Parameters*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

Vários estudos relacionados à aplicação das análises termogravimétrica (TGA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC) e da influência dos parâmetros experimentais sobre os resultados obtidos, encontram-se descritos na literatura, juntamente com uma classificação das diversas técnicas que compreendem o conjunto de técnicas termoanalíticas (Cavelheiro *et al.,* 1995; Ferguson *et al.,* 2000; Bernal *et al.,* 2002).

A análise térmica é definida como um conjunto de técnicas nas quais uma propriedade física é medida enquanto a amostra é submetida a um programa controlado de temperatura (Mackenzie, 1979, Lever *et al.,* 2014).

Dentre as técnicas termoanalíticas mais utilizadas encontram-se a Análise Termogravimétrica (TGA), na qual as alterações na massa da amostra (perda ou ganho) são determinadas em função da temperatura e/ou tempo em uma atmosfera controlada sob um programa de aquecimento e a Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), onde se acompanha a diferença de fluxo de calor entre a amostra e um material de referência em função de um programa de aquecimento ou resfriamento (Canevarolo, 2006; Anvisa, 2010;Haines, 2012).

A crescente utilização das técnicas de TGA e DSC se deve ao fato de que as mesmas podem ser realizadas a diversos tipos de materiais e empregadas para diferentes aplicações, como: identificação e análise da pureza de materiais; determinação de temperaturas e entalpias características de mudanças de estados físicos (fusão e vaporização); transformações de fases e reações e avaliação da cinética de decomposição térmica, entre outras (Machado e Matos, 2004; Ionashiro *et al.,* 2014).

Desta forma, o presente trabalho visa demonstrar, com experimentos simples, como alguns fatores experimentais controláveis pelo operador, podem alterar os resultados de TGA e DSC e a importância de fixar condições experimentais para reprodutibilidade dos experimentos térmicos.

Considerações sobre o composto usado como exemplo – álcool polivinílico (PVA)

Nos experimentos aqui apresentados foi empregado o álcool polivinílico, um polímero sintético bastante empregado nos campos industriais e farmacêuticos (Aranha e Lucas, 2001), cuja estrutura é apresentada na Figura 1.

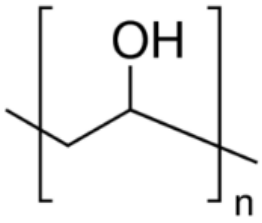


Figura 1. *Fórmula estrutural do PVA.*

O PVA é obtido pela polimerização do acetato de vinila e subsequente hidrólise do acetato de polivinila. Entretanto, a reação de hidrólise não é completa, formando, consequentemente, polímeros com diferentes graus de hidrólise dependendo da extensão da reação (Jodar, 2014).

Entre suas principais características pode-se citar sua não toxicidade, solubilidade em água, excelente capacidade de formação de filmes, poder emulsificador, adesivo e biodegradação (Marinho, 2005; Choo *et al.,* 2016).

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Reagentes

O álcool polivinílico (PVA) utilizado foi Kuraray Poval – EXCEVAL™, fornecido por Kuraray Co. Ltd, com grau de hidrolise de aproximadamente 89%.

2.2. Preparação do filme de PVA

O filme de PVA foi preparado pelo método casting, a partir da dissolução de 10,0 g do polímero em 100,00 mL de água deionizada sob agitação magnética e aquecimento até a temperatura de 70 °C. Após 1 hora, a solução foi vertida em placas de silicone e secas a temperatura ambiente por 48 horas.

2.3. Análises Térmicas

2.3.1 Análise Termogravimétrica (TGA)

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

As curvas de TGA foram obtidas em um equipamento Shimadzu DTG - 60H, utilizando-se taxa de aquecimento de 10 °C min^{-1}, sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 cm^3 min^{-1}. As amostras, na forma de pó e filme, foram aquecidas em cadinhos de alumínio até a temperatura de 650 °C.

2.3.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas de DSC foram obtidas em um equipamento modelo Q-20, TA Instuments, em uma única varredura. Nos ensaios utilizou-se atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 cm^3 min^{-1}.

Para demonstração da influência de diferentes parâmetros, em cada caso, fixou-se uma série de parâmetros variando-se o fator analisado, como descrito para cada na seção resultados e discussões.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Comportamento termogravimétrico do PVA

A Figura 2 apresenta as curvas de TGA e DTG das amostras de PVA, onde verifica-se a presença de três estágios de perda de massa, conforme descrito na literatura (Peng e Kong 2007). O primeiro estágio observado se refere a perda de água absorvida ou adsorvida na estrutura do PVA, o segundo evento corresponde ao processo de degradação térmica da matriz de PVA é o terceiro evento a carbonização dos produtos degradados anteriormente (Karin e Islam, 2011).

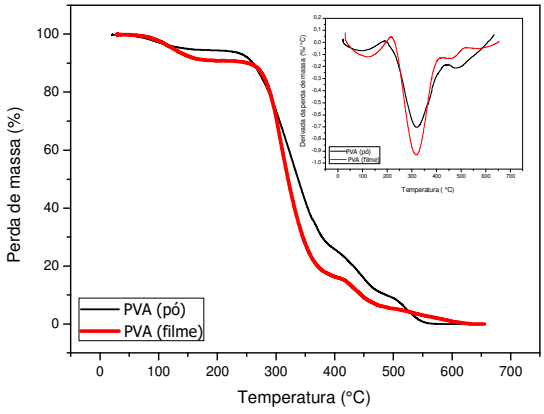


Figura 2. *Curvas de TGA para o PVA na forma de pó e filme. Inserção das curvas de DTG.*

Analisando as curvas, verifica-se que a diferença entre os termogramas está na extensão da faixa de temperatura em que ocorrem os eventos térmicos mediante alteração da forma física do PVA, conforme mostra a Tabela 1.

Observa-se que a modificação da forma física do PVA promove um deslocamento nas temperaturas inicias e finais dos eventos térmicos, sendo o mesmo mais significativo para o segundo e terceiro evento. Comparando os termogramas, vemos que o PVA na forma de pó apresenta uma Ti de degradação inferior ao do PVA na forma de filme, indicando que o mesmo começa a se decompor primeiro, devido a sua maior área superficial. Além disso, o processo de carbonização ocorre em temperaturas mais baixas para as amostra de PVA filme.

Outra modificação relacionada com a alteração da forma física do PVA é o aumento do teor de água contido na estrutura do filme, devido a seu processo de elaboração que utilizada uma porcentagem significativa de água, favorecendo a presença de água residual na matriz polimérica mesmo após o processo de evaporação do solvente.

3.2. Variação da taxa de aquecimento nos ensaios de DSC

Para verificar a influência da variação da taxa aquecimentos nas curvas de DSC do PVA, cerca de 7,00 mg do PVA na forma na pó foi aquecido sob atmosfera de nitrogênio em panelinhas de alumínio Tzero, variando a razão de aquecimento de 5 e 10 °C min^{-1} em cada experimento. Os resultados são apresentados na Figura 3.

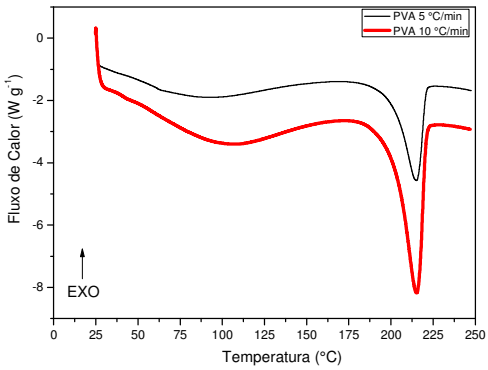


Figura 3. *Curvas DSC do PVA na forma de pó em diferentes razões de aquecimento.*

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

As curvas DSC obtidas variando a taxa de aquecimento apresentaram perfis semelhantes com ocorrência de dois picos endotérmicos, indicando processos que ocorrem mediante consumo de energia. A primeira endoterma, atribuída a evaporação de solventes, como a água, ocorre entre 40 e 140 °C, e a segunda endoterma, referente à fusão do PVA ocorre por volta dos 215 °C, próximo aos valores relatados na literatura [11]. De maneira geral, o aumento da taxa de aquecimento promove um deslocamento somente da temperatura máxima de evaporação, que muda de 90 para 105 °C, enquanto que a temperatura de fusão, obtida pelo máximo do pico de fusão, continua igual

Nota-se também, que ao se aumentar a taxa de aquecimento os picos se tornam mais intensos, alterando a área sob a curva dos picos Wendlandt, 1995). Assim os valores entalpia sofrem variações, como pode ser visto na Tabela 2.

Tabela 2. *Valores de entalpia de evaporação e fusão do PVA em diferentes taxas de aquecimento.*

Taxa de aquecimento (°C min^{-1})	Entalpia de evaporação (J g^{-1})	Entalpia de fusão (J g^{-1})
5	106,5	70,76
10	84,85	71,83

Neste caso, o efeito da elevação da taxa de aquecimento de 5 para 10 °C ocasionou uma variação mais significativa na entalpia de evaporação do PVA, reduzindo-a em 20%. Assim, nesta taxa de aquecimento o PVA requer uma menor quantidade de calor para que o processo de evaporação ocorra, visto que ele tende a ocorrer mais rápido.

Outro aspecto relacionado com a primeira endoterma e que este pico mascara a mudança de linha de base relativa à temperatura de transição vítrea (Tg) do PVA, uma vez que esta ocorre dentro da faixa de temperatura deste pico. Para contornar esse inconveniente é necessário um segundo aquecimento da amostra após uma etapa de resfriamento a fim de eliminar esta endoterma. Entretanto, ao se aumentar a taxa de aquecimento para 10 °C min^{-1} foi possível visualizar o processo de transição vítrea do PVA, que ocorre por volta dos 42 °C (Bandi et al. 2006), já que com esse aumento o processo de evaporação tende a ocorrer mais rápido, além de ter sua temperatura máxima de evaporação deslocada para valores mais elevados.

Logo, como o aumento da razão de aquecimento promove a intensificação na magnitude dos picos, alguns processos podem não ser detectáveis em razões de aquecimento menores, devido à baixa intensidade dos picos. Além disso, em razões de aquecimento altas pode ocorrer mascaramento de picos, por sobreposição. Portanto, é imprescindível definir experimentalmente a taxa de aquecimento adequada para cada amostra, possibilitando observar o máximo de eventos térmicos.

3.3. Variação da panelinha utilizada nos ensaios de DSC

Nestes experimentos, utilizou-se uma taxa de aquecimento constante de 10 °C min^{-1} sob atmosfera de nitrogênio, variando-se a panelinha utilizada para suporte da amostra de PVA na forma de pó, conforme mostra as curvas da Figura 4. As panelinhas utilizadas foram a panelinha de alumínio Tzero e a padrão de alumínio, ambas com tampas.

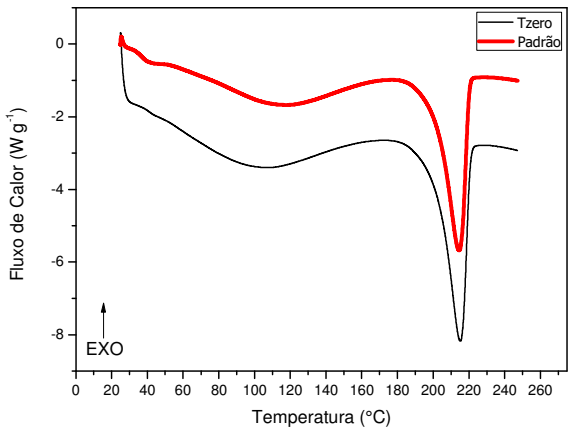


Figura 4. *Curvas DSC do PVA na forma de pó utilizando diferentes panelinhas.*

A técnica de DSC analisa a temperatura e a taxa de calor associada à transição do material em estudo, em relação à temperatura e ao tempo. Assim, quando a amostra sofre uma transformação física é necessário calor para manter a amostra e a referência na mesma temperatura. A diferença de energia necessária à amostra, para que sua temperatura seja a mesma da referência, corresponde à energia (entalpia) relacionada às transições físicas e/ou químicas sofridas pela amostra (Kodre *et al.,* 2014).

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Dessa forma, a alteração da panelinha Tzero para a padrão gerou uma redução no fluxo de calor, devido a menor quantidade de energia necessária para igualar as temperaturas da amostra de PVA e da referência, visto que esta panelinha propicia uma troca de calor mais efetiva entre a amostra e o termopar, conforme pode ser visto pelos valores de entalpia apresentado na Tabela 3. Além disso, essa alteração promoveu um deslocamento na temperatura máxima de evaporação, que passou de 105 °C para 115 °C.

Tabela 3. *Valores de entalpia de evaporação e fusão do PVA variando-se a panelinha utilizada.*

Tipo de panelinha	Entalpia de evaporação (J g^{-1})	Entalpia de fusão (J g^{-1})
Tzero	84,85	71,83
Padrão	59,91	66,71

Em relação a temperatura de transição vítrea, que corresponde a temperatura na qual as cadeias da fase amorfa obtém mobilidade (Lorandi *et al.,* 2016), percebe-se que a mesma é mais fácil de ser visualizada quando se utiliza a panelinha padrão, devido a seu maior contato térmico.

3.4. Variação da forma física do PVA

Nestes experimentos, utilizou-se uma taxa de aquecimento constante de 10 °C min^{-1} sob atmosfera de nitrogênio, variando-se a forma física do PVA em pó e filme, colocados em panelinhas de alumínio padrão. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 5.

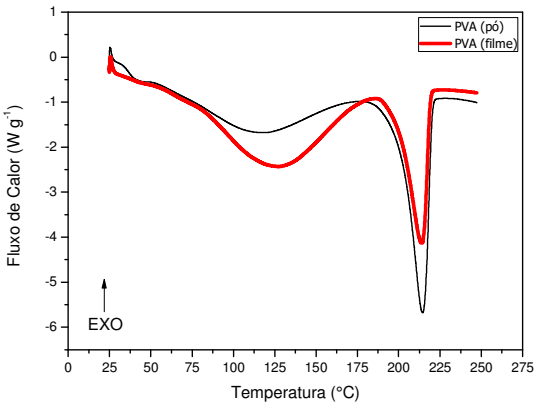


Figura 5. *Curvas DSC do PVA na forma de pó e filme.*

As curvas de DSC obtidas mostram que alteração da forma física do PVA de pó para filme ocasiona um deslocamento na temperatura máxima de evaporação de 115 para 126 °C. Acredita-se que esse deslocamento ocorre devido à dificuldade do calor se distribuir homogeneamente sobre o filme de PVA quando comparado com o pó, em razão do seu menor contato térmico com a panelinha.

Verifica-se também uma mudança nos valores de entalpia do filme (Tabela 4), uma vez que ocorre um aumento do fluxo de calor em relação a primeira endoterma, já que o filme contém uma quantidade maior de água em sua estrutura (Figura 2), e uma redução em relação a segunda, decorrente da distribuição não homogênea do filme no fundo da panelinha, que dificulta a troca de calor do mesmo com o termopar. Temos ainda, que para o filme não é possível verificar a temperatura de transição vítrea. Tal fato, pode estar relacionado com o empacotamento das cadeias de PVA no filme que apresentam mobilidade reduzida, não sendo assim visualizada pela análise de DSC.

Tabela 4. *Valores de entalpia de evaporação e fusão do PVA na forma de pó e filme.*

Forma física	Entalpia de evaporação (J g^{-1})	Entalpia de fusão (J g^{-1})
Pó	59,91	66,71
Filme	120,70	49,52

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

CONCLUSÕES:

Os resultados obtidos mostram que a alteração dos parâmetros analisados interferem diretamente nas análises térmicas de TGA e DSC, deslocando a faixa de temperatura em que alguns eventos ocorrem, como os eventos de perda de massa e de transição de fases, além de modificar a entalpia relacionada as transições descritas pelas curvas de DSC.

É importante mencionar que a técnica de DSC pode fornecer informações complementares ao TGA, pois mesmo que não haja mudança na massa de amostra podem ocorrer eventos térmicos relacionados a eventos físicos, como a fusão por exemplo.

Logo, os resultados apresentados demonstram que os fatores taxa de aquecimento, tipo de panelinha utilizada e forma física da amostra, são importantes para a obtenção de resultados reprodutíveis nos ensaios térmicos, visto que os mesmos promovem alterações nos eventos térmicos e nas entalpias relacionadas as transições de fases.

Assim, é fundamental descrever todos os parâmetros usados, como a forma física da amostra, natureza do suporte amostra, vazão e natureza do gás de arraste, razão de aquecimento.

AGRADECIMENTOS:

A autora agradece ao Laboratório Multiusuários do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia pela disponibilidade dos equipamentos utilizados para realização das análises térmicas.

REFERÊNCIAS:

1. Anvisa. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira, v. 1. 5ª Ed. Brasília, 2010.

2. Aranha, I. B.; Lucas, E. F. Pol: Cien. e Tecn. 2001, 11, 4.

3. Bandi, S.; Schiraldi, D. A. Macromol. 2006, 39, 19.

4. Bernal, C.; Couto, A. B.; Breviglieri, S. T.; Cavalheiro, E. T. G. Quím. Nova 2002, 25, 5.

5. Canevarolo Jr, S. v. Ciência dos polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros. 2ª. Ed. São Paulo: Artiliber editora, 2006.

6. Cavalheiro, E. T. G.; Ionashiro, M.; Breviglierib, S. T.; Marino, G.; Chierice, G. O. Quím. Nova 1995, 18, 3.

7. Choo, K.; Ching, Y. C.; Chuah, C. H.; Julai, S.; Liou, N. S. Mat. 2016, 9, 8.

8. Ferguson, H. F.; Frurip, D. J.; Pastor, A. J.; Peerey, L. M.; Whiting, L. F. Thermochim. Acta 2000, 362, 1-2.

9. Haines, P. J. Thermal Methods of Analysis: Principles, Applications, and Problems. Springer Science & Business Media, 2012.

10. Ionashiro, M.; Caires, C, F. J.; GOmes, D. J. Giolito: fundamentos da
11. termogravimetria e análise térmica diferencial/calorimetria exploratória diferencial. 2ª Ed. São Paulo: Giz Editorial, 2014.

12. Jodar, K. S. P. Dissertação de Mestrado, Universidade de Sorocaba, Brasil, 2014.
13. Karim, M. R.; Islam, M. S. JON. 2011, 2011, 5.

14. Kodre, K. V.; Attarde, S. R.; Yedhe, P. R.; Patil, R. Y.; Barge, V. U. JPA. 2014, 3. 3.

15. Lever, T.; Haines, P.; Rouquerol, J.; Charsley, E. L.; Eckeren, P. V.; Burlett, D. J. Pure Appl. Chem. 2014, 86, 4.

16. Lorandi, N. P.; Cioffi, M. O.; Orgaghi Jr., H. Sci. CUM Ind. 2016, 4, 13.

17. Machado, L. D. B.; Matos, J. R. Análise térmica diferencial e calorimetria exploratória diferencial. Técnicas de caracterização de polímeros. São Paulo: Artliber editora, 2004.

18. Mackenzie, R. C. Thermochim. Acta 1979, 28, 1.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

19. Marinho, J. D. Macromolécula e polímeros. Ilha Solteira: Manole, 2005.

20. Peng, Z.; Kong L. X. Polym. Degrad. Stab. 2007, 92, 6.

21. Wendlandt, W. W.. Thermal Analysis, 3ª Ed. Wiley: Nova Iorque, 1985.

Tabela 1. *Valores de temperatura inicial (T_i), final (T_f) e porcentagem de perda de massa (PM) dos eventos térmicos*

PVA	1° evento			2° evento			3° evento		
	T_i (°C)	**T_f (°C)**	**PM (%)**	**T_i (°C)**	**T_f (°C)**	**PM (%)**	**T_i (°C)**	**T_f (°C)**	**PM (%)**
Pó	60	150	5	225	470	85	490	575	10
Filme	70	175	10	250	400	75	420	600	15

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

IDENTIFICAÇÃO DE *Cryptococcus neoformans* EM EXCRETAS DE *Columba livia* QUE FREQUENTAM O HOSPITAL PÚBLICO DE PALMAS – TO

IDENTIFICATION OF Cryptococcus neoformans IN EXTRACTORS OF COLUMBA LIVIA THAT FREQUENT THE PUBLIC HOSPITAL OF PALMAS - TO

SAMPAIO, Jéssica Soares[1]*; GELLEN, Luís Fernando Albarello[2]; ALEXANDRE, Maria de Assis Cruz[3];

[1,2,3] Centro Universitário Luterano de Palmas, Faculdade de Biomedicina, Laboratório de Microbiologia e Micologia, Avenida Teotônio Segurado 1501 Sul, cep 77.019-900, Palmas – TO, Brasil (fone: +55 63 3219 8000)

** Jéssica Soares Sampaio*
e-mail: sampaio.jessicaa@gmail.com

Received 23 July 2018; received in revised form 08 September 2018; accepted 10 September 2018

RESUMO

No Brasil, as micoses vêm ganhando grande importância epidemiológica, devido ao aumento progressivo das taxas de morbidade e mortalidade. Em muitos lugares, o pombo já atingiu condições de pragas urbanas em razão de sua superpopulação se tornando um problema mundial que representa sérios riscos à saúde pública. Dentre os principais causadores de micoses provenientes dos pombos, destaca-se o *Cryptococcus* spp. esta espécie é o principal causador da criptococose, que ocorre a partir da inalação dos propágulos fúngicos que se dispersam pelo ar. Este trabalho objetivou a identificação de *Cryptococcus neoformans* em excretas de *Columba livia* que frequentam o Hospital Público de Palmas (HPP) para a verificação dos riscos de transmissão. Os resultados foram baseados na identificação dos pontos de maior frequência do pombo como no setor de quimioterapia (A) e no setor de emergência (B e C). A metodologia para identificação do *C. neoformans* foi amparada na avaliação da cultura macroscópica, microscopia e teste bioquímico. De 30 amostras identificadas, 3,3% no ponto A, 13,3% no ponto B, e 3,3% no ponto C foram positivas sendo observado, portanto, a presença do *C. neoformans* em grande porcentagem no setor de emergência do HPP, o que o torna um ambiente propício para a propagação da levedura.

Palavras-chave: Criptococose. Saúde Pública. Columbidae.

ABSTRACT

In Brazil, the mycoses have been winning great epidemiological importance, due to the progressive rate of morbidity and mortality. In many places, the pigeon has already reached urban pest conditions because of its overpopulation becoming a worldwide problem, which poses serious public health risks. Among the main causes of mycosis from pigeons, we highlight *Cryptococcus* spp. this species is the main cause of cryptococcosis, which occurs from the inhalation of fungal propagules that disperse through the air. This work aimed at the identification of *Cryptococcus neoformans* in excreta of *Columba livia* who attend the Public Hospital of Palmas (HPP) to verify transmission risks. The results were based on the identification of the most frequent points of the pigeon as in the chemotherapy sector (A) and in the emergency sector (B and C). The methodology for identification of C. neoformans was supported by the evaluation of macroscopic culture, microscopy and biochemical test. Of 30 samples identified, 3.3% at point A, 13.3% at point B, and 3.3% at point C were positive being observed, therefore, the presence of C. neoformans in a large percentage in the HPP emergency sector, which makes it an environment conducive to the propagation of yeast.

Keywords: Cryptococcosis. Public health. Columbidae.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

Segundo Tortora, Funke e Case (2012), fungos são organismos que possuem, metabolismo limitado a heterotrófico, aeróbico e anaeróbico facultativo. Tem a capacidade de parasitar e colonizar o homem e os animais, parasitismo este dependente da deficiência imunológica do hospedeiro, podendo causar diversos quadros infecciosos, chamados de micoses, com formas clínicas localizadas ou disseminadas (Brasil, 2004). No Brasil, as micoses têm grande importância epidemiológica e terapêutica, tornando-se um problema de saúde pública que reflete o nível de educação sanitária da população (Arenas; Esmenjaud, 2004).

Algumas pessoas possuem maior facilidade para o desenvolvimento de um quadro clínico ocasionado por micoses. Pacientes com diabetes, e Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (AIDS), assim como a utilização de fármacos imunossupressores e antibióticos, são alvos fáceis dos agentes fúngicos, pelo estado debilitado que se encontra o paciente. No ambiente hospitalar as infecções fúngicas passaram a ter uma grande importância nos últimos anos, devido ao aumento progressivo das taxas de morbidade e mortalidade (Martins-Diniz *et al.*, 2005; Somenzi; Ribeiro; Menezes, 2006).

Neste contexto, a progressão de infecções fúngicas se dá pelo crescimento demográfico de alguns vetores, em especial os pombos, que tem um papel importante na contaminação do meio ambiente e na dispersão de patógenos através da deposição de suas excretas. O comportamento e a intensa aproximação dos pombos a população é o maior agravante deste animal, devido a quantidade de microrganismos patogênicos, como fungos, ácaros e parasitos (Reolon; Perez; Mezzari, 2004).

Segundo Pemán, Zaragoza e Salavert (2013), os grupos de microrganismos causadores de infecções fúngicas invasivas hospitalares vem aumentando gradativamente, no entanto o *Cryptococcus* spp. encaixa-se como o patógeno oportunista mais habitual entre os fungos leveduriformes de interesse médico.

O *Cryptococcus neoformans* tem a capacidade de colonizar a mucosa do papo dos pombos, e por meio da excreção, liberam o fungo ao ambiente, vivendo saprofiticamente em seus excrementos. Além da grande capacidade de adaptação e de sua prolificidade, o principal problema é que o *C. neoformans* permanece viável nas fezes secas dessa ave durante aproximadamente dois anos, tornando-se um reservatório de partículas infectantes passíveis de inalação (Baroni *et al*., 2006).

Pertencente ao Filo *Basidiomycota*, Ordem *Sporidialis* e Família *Sporidiobalaceae*. *C. neoformans* apresenta-se na forma leveduriforme quando em estágio parasitário ou ambiental (*Cryptococcus*), e na forma filamentosa em determinadas condições ambientais (*Filobasidiella*) (Kwon-Chung; Bennett, 1992; Sia; Lengeler; Heitman, 2000; Tucker; Casadevall, 2002).

Sua patogenicidade está ligada à sua infectividade, ou seja, a capacidade desta levedura de infectar humanos e animais. Entre os fatores de virulência pode-se destacar a facultativa patogenicidade intracelular, e a presença de uma cápsula polissacarídica com atividade antifagocítica, tendo sua importância demonstrada pela observação de mutantes acapsulares de *C. neoformans* que raramente causa a doença (Kwon-Chung; Bennett, 1992; Chang; Penoyer; Kwon-Chung, 1996; Alspaugh; Perfect; Heitman, 1998; Feldmesser; Tucker; Casadevall, 2001).

Ainda a produção de urease são fatores que se destacam como capacidade infectante, a alteração de cor do meio ocorre pela alcalinização do meio pelo produto da hidrolise da ureia, pois esta levedura utiliza ureia pela ação da enzima, características estas que auxiliam para a identificação do *C. neoformans* (Wang; Aisen; Casadevall, 1995; Cox *et al*., 2000; Tucker; Casadevall, 2002).

A infecção em humanos por *C. neoformans* está relacionada com a disfunção da imunidade inata do hospedeiro, pela inalação de pequenas partículas, basidiósporos (3µm) ou blastoconídios (4 a 5µm) presentes no ambiente, podendo, inicialmente, causar infecção sintomática ou assintomática na área subpleural dos pulmões, ou permanecer dentro de um granuloma em estado latente (Mitchell; Perfect, 1995; Casadevall; Perfect, 1998; Lacaz *et al*., 2002).

Esta espécie é o principal agente da criptococose, considerada a mais importante das infecções fúngicas no nosso país. A Criptococose é a doença causada pelo

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Cryptococcus spp., a infecção ocorre a partir da inalação dos propágulos fúngicos que se dispersam pelo ar, sendo o pulmão o sítio anatômico primário da infecção, podendo se disseminar para o SNC (Reolon; Perez; Mezzari, 2004).

Em meados de 2000, a Criptococose assumiu um papel relevante, por ser considerada uma das micoses mais comuns em pacientes imunocomprometido, particularmente nos portadores da AIDS, acometendo principalmente o sistema nervoso central (Fernandes *et al.*, 2000).

O principal veículo de contaminação por fungos nos seres humanos ocorre através de fezes nitrificadas, ou seja, fezes de aves, em específico de pombos, onde o fungo permanece viável para contágio por um período de até dois anos. O C. neoformans tem a capacidade de colonizar a mucosa do papo dos pombos sem causar doença, pois se trata de um parasita natural a estas aves (Oliveira, 2014). Quando existe uma grande concentração de pombos em determinada área, além do problema estático e da sujidade no local, considera-se um risco potencial à saúde pública (Kahn *et al.*, 2012).

A existência de populações numerosas de pombos em centros urbanos é um problema mundial que representa risco à saúde pública devido às zoonoses que podem transmitir (Leal *et al.*, 2015). Em muitos lugares, o pombo doméstico já atingiu a condição de praga urbana, em razão de sua superpopulação, seus prejuízos econômicos e os riscos que representa à saúde pública, sendo necessário o seu controle populacional (Nunes, 2003).

Locais onde há acúmulo de excretas de aves servem como importante fonte de infecção do *C. neoformans* para a população que os frequenta, aumentando o risco de adquirir a doença devido a uma maior concentração de propágulos fúngicos infectantes presentes nestes ambientes (Reolon; Perez; Mezzari, 2004). Este acúmulo de fezes de pombos pode favorecer a inalação de microrganismos, durante os procedimentos de limpeza ou pelo deslocamento da ave em correntes de ar, na forma de redemoinhos chamados anéis vorticiais (Passoni, 1999; Nunes, 2003). As excretas de aves são ricas fontes de nitrogênio, como ureia e creatinina, oferecendo condições adequadas ao desenvolvimento deste fungo. Além disto, as aves servem como carreadoras, transportando a levedura em suas penas, patas e bicos (Lin, 2009). O objetivo desse trabalho foi pesquisar e identificar *C. neoformans* em excretas de *C. livia*, e verificar o risco da presença dessa ave para o ambiente hospitalar, tendo em vista que os frequentadores são pessoas debilitadas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas 30 amostras de excretas secas de *C. Lívia* (10 amostras por três dias em três locais distintos do ambiente externo do HPP), utilizando como critério os pontos com maior presença de pombos e fluxo de pessoas (Figura 1). Todas as amostras foram recolhidas com espátula esterilizada, acondicionadas em frascos estéreis com tampa e transportadas imediatamente para o Laboratório de Microbiologia do CEULP/ULBRA onde foram processadas (Filiú et al., 2002).



Figura 1: *Vista superior do HPP. A: Setor de Quimioterapia; B: Área esquerda do setor de emergência; C: Área direita do setor de emergência.* (Fonte: Google Earth, 2017).

Iniciou-se o processamento do material em câmara de fluxo laminar, onde cerca de 1g do material foi suspenso em 50mL de solução salina estéril contendo 0,4g/l de cloranfenicol em tubo falcon de 50mL. Agitou-se em vórtex por 3 minutos a 2000 rpm, e deixando em repouso por 30 minutos à temperatura ambiente para realização da semeadura (Filiú *et al*., 2002).

Retirou-se 0,1mL do sobrenadante aspirado que foi semeado em placas de petri com meio ágar Sabouraud dextrosado a 2%, utilizando alça de transferência estéril, e a técnica de varredura de alça (Filiú *et al.*, 2002).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Foram semeadas 10 placas por amostra, sendo incubadas à temperatura ambiente, entre 26 e 27,5°C e observadas novas colônias diariamente por um período de 7 dias (Filiú *et al.,* 2002; Contin *et al.*, 2011).

As colônias aparentemente lisas, úmidas, brilhantes e de coloração creme foram repicadas na forma de estrias simples em placas contendo ágar Sabouraund 2%, em seguida incubadas em estufa à temperatura de 30ºC e observadas por 7 dias (Filiú *et al*., 2002; Contin *et al*., 2011), realizando em seguida a análise microscópica das colônias e submissão às provas de identificação.

Após crescimento, foram realizados os testes microscópicos, segundo Reolon, Perez e Mezzari (2004), em montagens de lâmina com a cultura fúngica, suspensas com uma gota de tinta nanquim, sobrepondo-a com uma lamínula. Foram observadas as características morfológicas em microscópio óptico e em seguida, realizou-se a prova bioquímica da urease, inoculando com a colônia fúngica encontrada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 30 amostras coletadas, 6 (20%) foram positivas para a levedura *C. neoformans*. Foram observados crescimentos nos três pontos coletados no HPP, escolhidos de acordo com a frequência dos pombos no local e a presença das excretas. O ponto A referente ao setor de quimioterapia, apresentou 3,3% de positividade para *C. neoformans*; O ponto B, a área esquerda do setor de emergência, apresentou 13,3% de positividade e no ponto C, área direita do setor de emergência, foi observado 3,3% de positividade.

Estudos feitos por Lima, Klafke e Xavier (2015) no Campus Saúde da Universidade Federal do Rio Grande obtiveram 32,5% de positividade em 40 amostras de excretas de pombos. Valores semelhantes também foram encontrados por Mezzari *et al*. (2014) nos Hospitais de Porto Alegre.

Nos pontos de coleta, foram observados a sujidade do local, quantidade de excretas e prevalência de pombos. No local onde foi encontrada maior quantidade do *C. neoformans*, percebeu-se o acúmulo de sujidade, maior quantidade de excretas e maior prevalência de pombos (Figura 2). A presença da levedura comprova que, em locais onde há acúmulo excessivo de excretas, é possível melhor reprodução dos resultados, e a menor prevalência dos isolados em outros pontos pode demonstrar a necessidade de uma maior amostragem ou monitoração do local (Egres, 2010).



Figura 2*: Presença e sujidade do ambiente externo do HPP. (Fonte: Acervo próprio).*

Também na instituição estudada, foi observado o acúmulo de excretas depositadas nos telhados, nos beirais e nas centrais de ar condicionado. sua arquitetura proporciona espaços adequados para pouso e abrigo de animais. Em 1959, Littman descreveu caso de estudante de medicina que desenvolveu meningite criptocócica possivelmente resultado da exposição ao ar condicionado contaminado com excretas de *C. livia*. Mediante isso, pode-se associar a exposição das pessoas que frequentam o local com o ambiente de risco do mesmo.

Os seis isolados das excretas de pombos foram examinados macroscopicamente pela caracterização de suas colônias cremosas, lisas e de coloração creme, assim como relatado por Campos *et al.* (2009), sendo posteriormente isoladas e submetidas à provas de identificação (Figura 3).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil



***Figura 3**: Macroscopica de C. neoformans caracterizado por pelas colônias cremosas, lisas e de coloração creme.* (Fonte: acervo próprio)

As provas de identificação microscópica com tinta nanquim, para visualização da presença da cápsula polissacarídica, foram positivas para todos os isolados selecionados de acordo com as características macroscópicas da colônia (Figura 4).

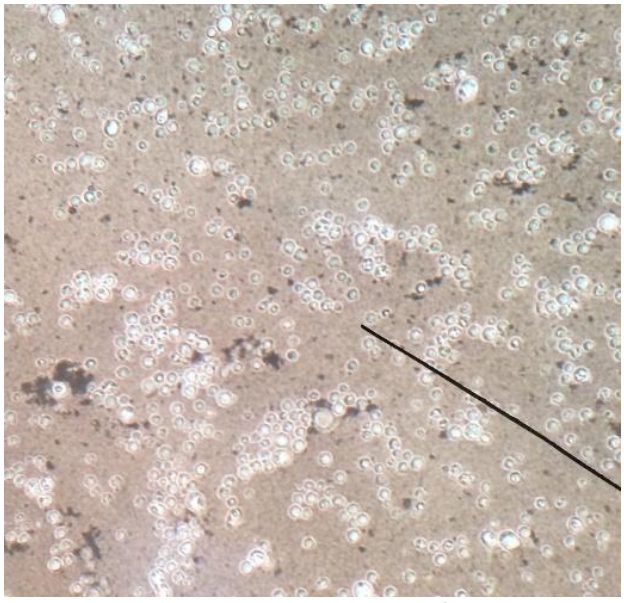


***Figura 4:** Identificação microscópica com tinta nanquim para vizualização da cápsula polissacaridica.* (Fonte: acervo próprio)

Segundo estudos realizados por Bulmer *et al.* (1967), a produção da cápsula polissacarídica é o primeiro fator de virulência conhecido em *C. neoformans.* Estando o paciente com o sistema imunológico debilitado, mesmo os acapsulados podem causar doenças, entretanto as linhagens encapsuladas possuem maior facilidade de se disseminar no cérebro, induzindo resposta celular mais significante nos pulmões (Casadevall; Perfect, 1998; Steenbergen; Casadevall, 2003).

Os testes de urease comprovaram a presença do *C. neoformans*, obtendo resultados positivos com a mudança da cor do meio (Figura 5). A produção de urease é uma prova bioquímica utilizada para identificação do gênero, pois as espécies de *Cryptococcus* são capazes de realizar hidrólise da ureia. A urease é a enzima responsável pela hidrólise da ureia em amônia e carbamato e o fungo *C. neoformans* produz esta enzima em grandes quantidades (Casadevall; Perfect, 1998; Cox *et al.*, 2000).

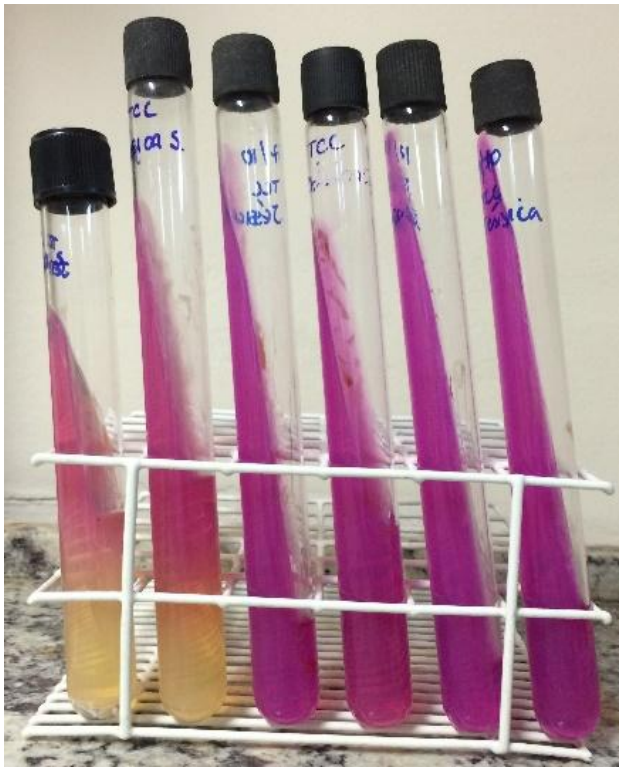


***Figura 5:** Teste de urease positiva para C. neoformans confirmado pela mudança de cor.* (Fonte: acervo próprio)

Os locais dos achados em questão são preocupantes pela gravidade dos pacientes que o frequentam, o setor de quimioterapia e emergência recebem não só pacientes debilitados, mas seus acompanhantes e funcionários do hospital, que também correm o risco da inalação de propágulos do *C. neoformans* disperso no ambiente. Um indivíduo sadio ao inalar propágulos do fungo pode não reagir de forma ativa ao sistema imunológico, mas quando o torna imunocomprometido o fungo

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

então adormecido, se torna latente, invadindo o SNC do indivíduo, representando a forma mais severa da criptococose (Egres, 2010).

A maioria desses estudos é executada em unidades de tratamento intensivo, unidade cirúrgica, enfermaria hematológica, maternidade e outras unidades de riscos de infecção, entretanto, poucos estudos correlacionam os níveis de contaminação fúngica ambiental que podem transmitir algum tipo de doença nos pacientes e no corpo funcional (Li, 2003). O grau de contaminação no ambiente hospitalar pode mudar drasticamente em combinação com diversos fatores, aos quais a presença de construções, o uso de sistemas de climatização artificial que não protegem contra os fungos, fazendo com que os propágulos fúngicos se desloquem para longas distâncias, sendo inaladas pelo homem (Perdelli *et al*., 2006).

Esse estudo comprova a presença do *C. neoformans* no ambiente externo do HPP, podendo ser observada durante a coleta a sujidade do local e a presença dos pombos circulando livremente com os usuários e funcionários. Com isso, fica evidente a necessidade de medidas de controles efetivas para a prevenção de doenças causadas pelo *C. neoformans* e o controle do *C. livia* em ambiente hospitalar a partir dos resultados obtidos em locais considerados de risco.

CONCLUSÕES

O estreito contato de humanos e essas aves em área hospitalar indicam um risco potencial à saúde pública, devido a exposição dos frequentadores do local, profissionais da área, profissionais de limpeza e principalmente aos pacientes imunocomprometidos, que correspondem a um grupo de risco para desenvolver criptococose.

Os locais dos achados fungícos são preocupantes, onde há uma maior frequência de pacientes imunocomprometidos, como setor de quimioterapia e de emergência, que constituem a categoria mais exposta aos riscos de infecção relacionado a esta problemática.

O aumento da população de pombos no HPP ocorre devido às condições adequadas para sua sobrevivência, como estrutura física da construção, tornando-se o ambiente ideal para construção de ninhos e matéria orgânica disponível, como lixos e lanchonetes a céu aberto.

Os resultados trazem em questão a importância da minimização dos riscos, e a necessária precaução a partir de medidas de controle efetivo das aves, a fim de prevenir a transmissão de doenças e a disseminação do agente no ambiente, ressaltando-se a necessidade de medidas educativas a população, no sentido de não alimentar os pombos em áreas públicas.

Todas as medidas preventivas em relação aos pombos são efetivas em um curto prazo. O abatimento, por exemplo, é uma medida preventiva que é necessária a autorização dos órgãos responsáveis, mas é uma medida temporária, pois os pombos irão se reproduzir o que irá aumentar a quantidade outra vez. A administração de anticoncepcionais é uma medida viável, mas requer recursos e tempo para a população de pombos diminuir, pois sua média de vida nas cidades é de 3 a 5 anos. As medidas que podem ser solucionadas são o controle da alimentação, ou seja, não alimentar os pombos e recolher a matéria orgânica disponível, e a mudança na estrutura do local, impedindo o acesso das aves nas construções, fechando os locais com telas ou alvenarias, após uma desinfecção do local. Assim, iremos diminuir a população de pombos com uma melhor perspectiva.

REFERÊNCIAS

1. ALSPAUGH, J.A.; PERFECT, J.R.; HEITMAN, J. Signal transduction pathways regulating differentiation and pathgenicity of Cryptococcus neoformans. Fungal Genet. Biol. v.25, p.114, 1998.

2. ARENAS, J.; ESMENJAUD, J.R. Onychomycosis in childhood: a current perspective with emphasison the review oftreatment. An. bras. dermatol. v.79, n.2, p.225232, 2004.

3. BARONI, F.A.; PAULA, C.R.; SILVA É.G.; VIANI, F.C.; RIVERA, I.N.G.; OLIVEIRA, M.T.B.; GAMBALE, W. Cryptococcus neoformans strains isolated from church towers in Rio de Janeiro city, RJ, Brazil. Rev. do Inst. de Med. Trop. de SP, v.48, n.2, p.71-75, 2006.

4. BRASIL. Detecção de fungos de

• ISSN 1806-0374 (impresso) • ISSN 1806-9827 (CD-ROM) • ISSN 2179-0302 (meio eletrônico)

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

importância médica. Brasília: Anvisa, 2004.

5. BULMER, G.S.; SANS, M.D.; GUNN, C.M. Cryptococcus neoformans I. Nonencapsulated Mutants. J. Bacteriol., v.94, p.1475-1479, 1967.

6. CAMPOS F.L.; PEREIRA J.R.; SILVA M.V.; SANTOS B.C.P; BARONI F.A. Isolamento de Cryptococcus neoformans,C. gattii e C. laurentii de sistema nervoso central de cães na cidade do Rio de Janeiro. Acta Sci. Vet.. v.37, n.4, p.351-355, 2009.

7. CASADEVALL A.; PERFECT J.R. Cryptococcus neoformans. Washington: ASM Press, 1998.

8. CHANG, Y.C.; PENOYER, L.A.; KWON-CHUNG, K.J. The Second Capsule Gene of Cryptococcus neoformans, CAP64, Is Essential for Virulence. Infect Immun, v.64, n.6, p.1977-1983, 1996.

9. CONTIN, J.T.; QUARESMA, G.S.; SILVA, E.F.E.; LINARDI, V.R. Ocorrência de Cryptococcus neoformans em fezes de pombos na cidade de Caratinga, MG – Brasil. Rev. Méd. de MG, v.21, n.1, p.19-24, 2011.

10. COX G.M.; MUKHERJEE, J.; COLE, G.T.; CASADEVALL, A.; PERFECT, J.R. Urease as a virulence fator in experimental cryptococcosis. Infect Immun; v.68, n.2, p.443-448, 2000.

11. EGRES, C.C. Isolamento ambiental de Cryptococcus spp em hospital de Porto Alegra - RS. 81 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

12. FELDMESSER, M.; TUCKER, S.; CASADEVALL, A. Intracellular parasitism of macrophages by Cryptococcus neoformans. Trends In Microbiology, Usa, v.9, n.6, p.273278, jun. 2001.

13. FERNANDES, O.F.L; COSTA, T.R; COSTA, M.R; SOARES, A.J; PEREIRA, A.J.S.C; SILVA, M.R.R. Cryptococcus neoformans isolados de pacientes com AIDS. Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop. v.33, p.75-78, 2000.

14. FILIÚ, W.F.O; WANKE, B.; AGUENA, S.M.; VILELA, V.O; MACEDO, R.C.L; LAZÉRA, M. Cativeiro de aves como fonte de Cryptococcus neoformans na cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. Rev. da Soc. Bras. de Med. Trop. v. 35, n.6, p.591-595, dez. 2002.

15. KAHN, R.E.; MOROZOV, I.; FELDMANN, H.; RICHT, J.A. 6th International Conference on Emerging Zoonoses. Zoonoses And Public Health, v.59, p.2-31, set. 2012.

16. KWON-CHUNG K.J.; BENNETT J.E. Cryptococcosis., Medical Mycology, Lea & Febiger, Philadelphia, p.397-446, 1992.

17. LACAZ, C. S.; PORTO, E.; MARTINS, J. E. C.; HEINS-VACARI, E. M. & MELO, N. T. Tratado de Micologia Médica. 9.ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

18. LEAL, D.C.; NEGRÃO, V.B.; SANTOS, F.; RASO, T.F.; BARROUIN-MELO, S.M.; FRANKE, C.R. Ocorrência de Chlamydophila psittaci em pombos (Columba livia) na cidade de Salvador, Bahia. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.67, n.3, p.771-776, jun. 2015.

19. LI C.S.; HOU P.A. Bioaerosol characteristics in hospital clean rooms. Sci Total Environ, v.305, p.169-176, 2003.

20. LIMA, C.T.; KLAFKE, G.B.; XAVIER, M.O. Cryptococcus spp. em excretas de Columba livia (pombos domésticos) provenientes de um Hospital Universitário no Sul do Brasil. Arquivos do Instituto Biológico, v.82, p.1-4, 2015.

21. LIN, X. Cryptococcus neoformans: Morphogenesis, infection, and evolution. Infection, Genetics and Evolution, v.9, n.4, p.401-416, jul. 2009.

22. LITTMAN, M. L.; TSUBURA, E. Encapsulation and virulence C. neoformans: effect of degree of encapsulation upon virulence of

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Cryptococcus neoformans. New York: Dept. Of Microbiology, p.774-777, 1959.

23. MARTINS-DINIZ, J.N; SILVA, R.A.M.; MIRANDA, E.T.; MENDES-GIANNINI, M.J.S. Monitoramento de fungos anemófilos e de leveduras em unidade hospitalar. Revista Saúde Pública, Araraquara, v.3, n.39, p.398-405, 2 fev. 2005.

24. MEZZARI, A.; WLLEBBELLING, A.M.P; WENCZENOVICZ, C.; SOUZA, C.D.A.; FREITAS, G.S.O.; BARBOZA, L.D.; PENA, L.D.; KISSMANN N.; PORTICH, J.P.; CARNEIRO, L.C.; BEHAR, P.R.P. Presença do Cryptococcus spp. nas excretas de pombos nos arredores de Hospitais de Porto Alegre. Rev Panam Infectol, Porto Alegre, v.16, n.3, p.153-160, 10 jul. 2014.

25. MITCHELL, T. G.; PERFECT, J. R. Cryptococcosis in the era of AIDS – 100 years after discovery of Cryptococcus neoformans. Rev Clin Microbiol, v.8, n.4, p.515-548, 1995.

26. NUNES, V.F.P.; Pombos urbanos: o desafio de controle. Biológico; n.65, v.1-2, p.8992,2003.

27. PASSONI, L.F.C. Wood, animals and human beings as reservoirs for human Cryptococcus neoformans infection. Rev Iberoam Mico, Rio de Janeiro, v.1, n.16, p.77-81, jun. 1999.

28. PEMÁN, J.; ZARAGOZA, R.; SALAVERT, M. Control y prevención de las infecciones nosocomiales y asociadas a cuidados sanitarios causadas por especies de Candida y otras levaduras. Rev Esp Quimioter, Valencia, v.4, n.26, p.298-311, jun. 2013.

29. PERDELLI, F.; CRISTINA, M.L.; SARTINI, M.; SPAGNOLO, A.M.; DALLERA, M.; OTTRIA, G.; LOMBARDI, R.; GRIMALDI, M.; ORLANDO, P. Fungal contamination in hospital environments. Infect Control Hosp Epidemiol, v.27, p.22-27, 2006.

30. REOLON, A.; PEREZ, L.R.R.; MEZZARI, A. Prevalência de Cryptococcus neoformans nos pombos urbanos da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Jor. Bras. de Pat. e Med. Lab. v.40, n.5, p.293-298, out. 2004.

31. SIA, R.A.; LENGELER, K.B.; HEITMAN, J. Diploid Strains of the Pathogenic Basidiomycete Cryptococcus neoformans Are Thermally Dimorphic. Fungal Genetics And Biology, v.29, n.3, p.153-163, abr. 2000.

32. STEENBERGEN, J. N.; CASADEVALL, A. The origin and maintenance of virulence for the human pathogenic fungus Cryptococcus neoformans. Microbes Infect, v.5, p.667-675, 2003.

33. TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. Microbiologia. 10º Edição. Porto Alegre. Editora Artmed. 2012.

34. TUCKER, S.C.; CASADEVALL, A. Replication of Cryptococcus neoformans in macrophages is accompanied by phagosomal permeabilization and accumulation of vesicles containing polysaccharide in the cytoplasm. Proc Natl Acad Sci USA, v.99, n.5, p.31653170, 2002.

35. WANG, Y.; AISEN, P.; CASADEVALL, A. Cryptococcus neoformans Melanin and Virulence: Mechanism of Action. Infection And Immunity, New York, v.63, n.8, p.31313136, ago. 1995.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ATIVIDADE ANTI-*Candida albicans* DA ASSOCIAÇÃO DO CITRONELAL COM A ANFOTERICINA B OU COM O CETOCONAZOL

ANTI-CANDIDA ALBICANS ACTIVITY OF THE ASSOCIATION OF CITRONELAL WITH ANFOTERICIN B OR WITH CETOCONAZOLE

SILVA, Patrícia Duarte Costa[1]; SANTOS, Brenda Lavínia Calixto dos*[2]; SOARES, Gustavo Lima[3]; OLIVEIRA, Wylly Araújo de[4]

[1,2,3,4] Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, Unidade Acadêmica de Saúde, Sítio Olho D'água da Bica, S/Nº, Cep 58175-000, Cuité-PB, Brasil
(Fone: +55 83 3372 1900)

** Autor correspondente*
e-mail: bcalixto96@gmail.com

Received 2 August 2018; received in revised form 13 September 2018; accepted 15 September 2018

RESUMO

Infecções fúngicas causadas por espécies do gênero *Candida* são responsáveis por altos índices de morbimortalidade, afetando principalmente imunocomprometidos. Dentre os fungos, *Candida albicans* é a espécie mais frequentemente isolada de amostras clínicas. Problema associado ao aumento de resistência dos fungos patogênicos aos agentes utilizados no esquema terapêutico e ao número limitado de drogas para a cura dessas infecções. Com isso, a busca por novos fármacos com atividade antifúngica tornou-se cada vez mais importante. O trabalho objetiva estudar a atividade antifúngica do citronelal isoladamente e em associação com a anfotericina B ou com o cetoconazol. A Concentração Inibitória Mínima do citronelal, anfotericina B e cetoconazol frente a cepas de *Candida albicans* foram avaliadas pela técnica da microdiluição, sendo ainda realizada a Concentração Fungicida Mínima do citronelal contra as mesmas cepas. Através da metodologia *checkerboard* foi determinado o efeito da combinação do citronelal com a anfotericina B ou com o cetoconazol. Este estudo demostrou que a associação do citronelal com o cetoconazol mostrou-se aditivo contra uma das cepas de *C. albicans* e indiferente para outra cepa. Enquanto que a atividade combinada do citronelal com a anfotericina B demonstrou efeito indiferente para as cepas ensaiadas.

Palavras-chave: *Farmacoterapia, antifúngicos, checkerboard.*

ABSTRACT

Fungal infections caused by species of the genus *Candida* are responsible for high morbidity and mortality rates, mainly affecting immunocompromised individuals. Among fungi, *Candida albicans* is the most frequently isolated species of clinical specimens. A problem associated with increased resistance of pathogenic fungi to the agents used in the therapeutic regimen and the limited number of drugs to cure these infections. As a result, the search for new drugs with antifungal activity has become increasingly important. The aim of this study is to study the antifungal activity of citronellal alone and in combination with amphotericin B or ketoconazole. The Minimal Inhibitory Concentration of citronellal, amphotericin B and ketoconazole against strains of *Candida albicans* were evaluated by the microdilution technique, and the Minimum Fungicide Concentration of citronellal against the same strains was also performed. Through the *checkerboard* methodology the effect of the combination of citronelal with amphotericin B or with ketoconazole was determined. This study showed that the association of citronellal with ketoconazole was shown to be an additive against one of the strains of *C. albicans* and indifferent to another strain. While the combined activity of citronellal and amphotericin B demonstrated an indifferent effect on the strains tested.

Keywords: *Pharmacotherapy, antifungal, checkerboard.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

A incidência e prevalência de infecções invasivas causadas por fungos têm aumentado nas últimas décadas, especialmente nas grandes populações de doentes imunocomprometidos. As espécies do gênero *Candida* (Figura 1) são as causas mais comuns desse tipo de infecção. Estas leveduras são comensais em humanos saudáveis, mais podem tornar-se patogênicas quando ocorrem alterações nos mecanismos de defesa do hospedeiro ou o comprometimento de barreiras anatômicas secundariamente a queimadura ou procedimentos médicos invasivos (PEIXOTO *et al*., 2016; PILMIS *et a*l., 2016; OZER, DURMAZ, YULA, 2016).

O número de drogas antifúngicas disponíveis para o tratamento de infecções causadas por esses microrganismos ainda é bastante limitado, principalmente em comparação com o número de drogas antibacterianas. Os principais grupos de agentes antifúngicos com ação sobre espécies de *Candida* são representados pelos derivados azólicos e os antibióticos poliênicos (Quadro 1), sendo a anfotericina B recomendada para as formas mais graves de infecções, no entanto, seu uso está bastante relacionado a problemas de nefrotoxicidade. Além do mais, a extensa exposição dos microrganismos às drogas tem aumentado o processo de resistência, constituindo um sério problema na terapêutica das infecções fúngicas (BACKES, JURSIC, NEUMANN, 2015; DEORUKHKAR, SAINI, 2015, MOTTA *et al*., 2016).

Com isso a busca por novas drogas e agentes mais eficazes para combater esse tipo de infecções vem se intensificando, e a associação entre agentes antimicrobianos é uma estratégia bastante estudada e tem como benefício a ampliação dos espectros de ação das drogas combinadas, a prevenção de resistência, a redução de dose e consequentemente a diminuição dos riscos de toxicidade das drogas utilizadas isoladamente, o que é essencialmente importante para medicamentos como a anfotericina B (BARBOSA, *et al*., 2017). Os produtos de origens naturais são modelos atraentes para esse fim, pois muitas plantas são geralmente usadas na medicina popular como agentes antimicrobianos, na forma de óleos essências e extratos (CORREIA, 2016; CHAVES, *et al*, 2018).

O objetivo desse trabalho foi estudar a atividade antifúngica do citronelal quando associado com a anfotericina B ou com o cetoconazol. As atividades de cada droga foram determinadas através da técnica de microdiluição por *checkerboard*, um método de diluição em caldo que visa determinar a concentração inibitória mínima (CIM) de cada composto em combinação um com o outro. Além disso, foram determinadas as CIMs do citronelal, cetoconazol e anfotericina B contra as cepas de *Candida albicans* e avaliada a Concentração Fungicida Mínima (CFM) do citronelal frente ao mesmo fungo. Com isso, o trabalho objetiva estudar a atividade antifúngica do citronelal quando associado com a anfotericina B ou com o cetoconazol.

MATERIAL E MÉTODOS

A determinação das Concentrações Inibitórias Mínimas (CIMs) do cetoconazol, anfotericina B e citronelal foram realizadas através do método de microdiluição em Caldo Sabouraud desxtrose (CSD) (CASTRO, LIMA, 2010; CASTRO, LIMA, 2011; CORTEZ *et al*., 2015). A determinação da CIM de cada composto foi determinada em microplacas de 96 cavidades e CSD como meio de cultura, as substâncias foram diluídas seriadamente 1:2 para obtenção de concentrações entre 2.000 a 1,95 µg/mL. Os experimentos foram conduzidos com aproximadamente 1-5 $x10^5$ unidades formadoras de colônias/mL em cada cavidade. A última coluna da placa foi utilizada para o controle negativo (apenas CSD) e controle positivo do experimento (CSD e o microrganismo). Todos os testes foram realizados em triplicata.

As placas de microdiluição foram incubadas a 37°C e a leitura foi feita após 24 horas, observando presença ou ausência de crescimento visível. A CIM foi considerada a menor concentração da substância testada que inibiu o crescimento do microrganismo. As cepas utilizadas foram: *Candida albicans* ATCC 76615, *Candida albicans* ICB-12, *Candida albicans* LM-410, *Candida albicans* LM-393 e *Candida albicans* LM-178.

A determinação da Concentração Fungicida Mínima foi realizada em placa de Petri contendo ASD. Uma alíquota de 10 µL do conteúdo de cada uma das cavidades da placa de microdiluição que representam as 4 menores

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

concentrações onde não houve crescimento do microrganismo foi semeada em uma placa de Petri. Após 24-48 horas de incubação a 37°C, foi verificado o crescimento de colônias nas respectivas concentrações. A CFM correspondeu a menor concentração da droga que reduziu > 99,9% de células (ERNST *et al*., 1999; MEDEIROS, *et al*, 2018).

Após a definição da CIM de cada droga antifúngica e do citronelal foram realizadas as combinações. O estudo de associação entre o cetoconazol e citronelal foi conduzido utilizando-se a técnica de microdiluição por *checkerboard*. Inicialmente, foram preparadas diluições do cetoconazol e do citronelal em sete concentrações diferentes CIMx8, CIMx4, CIMx2, CIM, CIM/2, CIM/4 e CIM/8. Em seguida, 100 µL do CSD foram distribuídos nos poços da placa de microdiluição de 96 cavidades. Depois 50 µL da solução do antifúngico em diversas concentrações (CIM/8, CIM/4, CIM/2, CIM, CIM×2, CIM×4 e CIM×8) foram adicionados no sentido vertical (ex.: cetoconazol) e 50 µL da solução do citronelal também em diferentes concentrações foram adicionados no sentido horizontal da microplaca. Desta maneira, as diversas concentrações do citronelal foram testadas na presença de várias concentrações do cetoconazol. Por último, foram acrescentados 20 µL do inóculo das cepas ICB-12 e ATCC 76615, previamente ajustadas de acordo com a escala 0,5 de McFarland. O mesmo procedimento foi realizado para associação da anfotericina B e citronelal. Todos os testes foram realizados em triplicata. As placas foram incubadas a 37°C e a leitura foi feita após 24 - 48 horas para observar a presença ou ausência do crescimento fúngico (CASTRO, *et al*, 2011; HIMRATUL-AZNITA, NOR-ZULAILA, NURUL-FATIHAH, 2016).

O Índice da Concentração Inibitória Fracional (ICIF) foi calculado e acordo com a equação:

- $ICIF = CIF_A + CIF_B$

Onde o ICIF foi interpretado da seguinte forma: ≤ 0.5 sinergismo, > 0.5 e ≤ 1.0 aditivo, > 1.0 e < 4.0 representa indiferença e ≥ 4.0 ocorre antagonismo (DOERN, 2014).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram determinadas as concentrações inibitórias mínimas do citronelal frente a quatro cepas de isolados clínicos ICB-12, LM-393, LM-410, LM-178 e frente a uma cepa padrão ATCC-76615. Conforme mostram os resultados da Tabela 1, nota-se que o citronelal apresentou inibição a todos os microrganismos ensaiados, sendo a maioria deles sensível à concentração de 250 µg/mL, ao passo que a CIM contra ICB-12 e ATCC-76615 foi 500 µg/mL.

Quanto aos valores das CFMs, observou-se que o citronelal apresentou atividade fungicida para as cepas LM-393, LM-410 e LM-178 na concentração 250 µg/mL. No entanto, os resultados obtidos para a ICB-12 e ATCC-76615 indicaram que CFM é quatro vezes maior do que as CIMs encontradas para essas cepas, como ilustrado na Tabela 1.

De acordo com Sartoratto e colaboradores (2004) as CIMs entre 50 e 500 µg/mL são consideradas com forte atividade antimicrobiana, com CIMs entre 600 e 1500 µg/mL atividade moderada e CIMs acima de 1500 µg/mL são considerada atividade fraca. Portanto, pode-se considerar que o citronelal possui forte atividade anti-*Candida albicans*, visto que a CIM variou de 250 a 500 µg/mL.

Resultados apresentados por Medeiros e colaboradores (2018), demonstraram CIM mais baixa do citronelal contra espécies de *Candida* com valores de 16 e 64 µg/mL. Do mesmo modo Zore *et al*., (2011) estudaram a atividade anti-*Candida albicans* do citronelal e tiveram bons resultados de CIM.

Diversos estudos apontam atividade antimicrobiana do citronelal contra várias espécies de fungos, incluindo fungos filamentosos (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*) e dermatófitos. A literatura relata, por exemplo, valores de CIM e CFM que variaram de 0,6 a 5 µL/mL e 1,25 a 5 µL/mL, respectivamente, com a utilização do citronelal contra fungos dermatófitos (TOLBA, *et al*, 2015).

Além disso, diferentes óleos essenciais demonstram significativas atividades antifúngicas como é o caso do óleo essencial da *Eucalyptus citriodora* e *Eucalyptus globulus* que possui o citronelal como constituinte majoritário (LIN, *et al*, 2015; VIEIRA, *et al*, 2017). Como demonstrado por Park e colaboradores (2016) e Park e colaboradores (2018) óleo essencial da *Eucalyptus globulus* (citronela) foi efetivo contra espécies de gênero *Candida*.

O citronelal também é ativo contra

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

algumas espécies de bactérias como é o caso da *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Fusobacterium nucleatum* (VIEIRA, *et al*, 2017; HARKATMADOURI, *et al*, 2015).

Os óleos essenciais são os mais investigados em consequência do seu menor custo e menor resistência microbiana (SEIXAS *et al*., 2011). É possível que os óleos essenciais atuem na parede celular fúngica, causando extravasamento do conteúdo celular. A característica lipossolúvel dos óleos e de seus constituintes permite a interação com estruturas celulares que também tem uma constituição lipídica levando ao aumento da permeabilidade da membrana e consequente morte celular (DAGLI, *et al*, 2015). Muitos estudos são necessários para elucidar com clareza o mecanismo de ação desses produtos.

Diferentes metodologias têm sido empregadas para verificar a atividade in vitro de óleos essenciais e seus componentes, a microdiluição é o método mais eficiente para atestar a atividade antimicrobiana de substâncias naturais. Além de ser de fácil execução é também o que melhor oferece dados quantitativos e permite uma fácil interpretação, por isso é ótima escolha para pesquisa de novos produtos com potencial atividadade antifúngica.

Os resultados da combinação entre citronelal e anfotericina B, e citronelal com cetoconazol pelo método de *Checkerboard* contra as cepas ICB-12 e ATCC 76615 estão ilustrados nas Tabelas 2 e 3 respectivamente.

Atividade de combinações contendo citronelal contra *C. albicans* tem sido menos investigada. Ressaltando a importância de se explorar cada vez mais a ação antimicrobiana dessa substância, uma vez reconhecida sua atividade antifúngica.

O pequeno arsenal de drogas antifúngicas e a emergência de resistência por espécies patogênicas, sobretudo por *C. albicans*, tem acarretado em dificuldades para tratamento dessas micoses, o que tem levado a necessidade urgente de medicamentos mais eficientes e mais seguros (WINGARD, 1995; SANGLARD, ODDS, 2002, MOTTA *et al*., 2016). Daí a importância da combinação de drogas antifúngicas como terapia alternativa, principalmente, nos casos de pacientes com infecções fúngicas invasivas graves não responsivos à monoterapia antifúngica habitual (WIEDERHOLD, 2016).

Atividade de combinações contendo citronelal contra *C. albicans* tem sido menos investigada. Ressaltando a importância de se explorar cada vez mais a ação antimicrobiana dessa substância, uma vez reconhecida sua atividade antifúngica. Daí a importância da combinação de drogas antifúngicas como terapia alternativa, principalmente, nos casos de pacientes com infecções fúngicas invasivas graves não responsivos à monoterapia antifúngica habitual (DRAGO *et al*., 2007; SPADER, 2017).

A avaliação da combinação sinérgica de substâncias de origem vegetal com medicamentos antifúngicos tornou-se uma importante área de interesse. Muitos estudos nesse sentido têm sido realizados para melhorar o desempenho biológico das drogas convencionais e permitir o uso de fármacos que apresentam considerável toxicidade (OLAJUYIGBE; AFOLAYAN, 2013).

CONCLUSÕES

O citronelal foi efetivo contra os fungos testados e sua associação com o cetoconazol mostrou aditividade para a cepa ATCC 76615. No entanto, a associação com a anfotericina B mostrou-se indiferente.

REFERÊNCIAS

1. Backes, G. L., Jursic, B. S., Neumann, D. M. Bioorg. Med. chem. **2015**, 23, 13.

2. BarbosA, H. M., Albino, A. M., Cavalcante, F. S. A., Lima, R. A. S. Am. J of Basic Educ., Tech. Technol., **2017**, 4, 1.

3. Chaves, M. R. V., De Oliveira, G. M. G., Neto, M. J., Neves, F. M. D. L., Barbosa, I. M. L. Rev. Saúde e Meio Ambiente, **2018**, 1, 6.

4. Correia, A. F. Tese de pós- graduação, Universidade Federal de Brasília, Brasil, **2016**.

5. Dagli, N., Dagli, R., Mahmoud, R.S., Baroudi, K. J. Int. Soc. Preventive and Community Dentistry. **2015**, 5, 5.

6. Deorukhkar, S.C.; Saini, S. Pravara Med

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Review. **2015**, 7, 15.

7. Doern, C.D. J. Clin. Microbiol., **2014**, 52,12.

8. Drago, L.; De Vecchi, E.; Nicola, L.; Gismondo, M.R. BMC Infect. Dis., **2007**, 7, 1.

9. Ernst, E. J., Klepser, M. E., Ernst, M. E., Messer, S. A., Pfaller, M. A. Diagn. Microbiol. Infect. dis., [S. l.]. **1999**, 33, 3.

10. Arkat-Madouri, L., Asma, B., Madani, K., Si Disse, Z.B.O., Rigou, P., Grenier, D., Allalou, H. Industrial Crops and Products. **2015**, 78.

11. Ganis, P., Auitabile, G., Mechlinki, W., Schaffner, C.P. Polyene macrolide antibiotic amphotericin B. Crystal structure of the N-iodo-acetyl derivative. J. Amer. Chem. Soc. **1971,** 93, 4560-4564.

12. Himratul-Aznita, W. H.; Nor-Zulaila, C. O.; Nurul-Fatihah, K. SpringerPlus, **2016**, 5, 1.

13. http://thunderhouse4yuri.blogspot.com/2009/12/candida-albicans.html, acessado em setembro de **2018**.

14. Lin, L., Cui, H., Zhou, H., Zhang, X.A., Bortolini, C., Chen, M. Chem. Commun. **2015**, 51.

15. Medeiros, C. I. S., De Oliveira, H. M. B. F., De Sousa, J. P., De Oliveira Filho, A. A., Lima, E.O. Arch.f Health Investigation, **2018**, 7, 1.

16. Motoa, G.; Muñoz, J.S.; Oñate, J.; Pallares, C.J.; Hernández, C.; Villegas, M.V. Rev. Iberoamericana de Micología, **2016**, 34, 1.

17. Motta, F.A.; Dalla-Costa, L.M.; Muro, M.D.; Cardoso, M.N.; Picharski, G.L.; Jaeger, G.; Burger, M. J. ped. **2016**, 93, 2.

18. Özer, T.T.; Durmaz, S.; Yula, E. J. Infect. Chemother.. **2016**, 22, 9.

19. Park, J.W., Wendt, M., Heo, G.J. Lab. Ani. Res. **2016**, 32, 2.

20. Peixoto, I.T.A., Furletti, V.F., Anibal, P.C., Figueira, G.M., Sartoratto, A., Busato De Feiria, S.N. Adv. in Med.l Plant Res. **2016**, 4, 2.

21. Peixoto, L.R.; Rosalen, P.L.; Ferreira, G.L.S.; Freires, I.A.; De Carvalho, F.G.; Castellano, L.R.; De Castro, R.D. Arch. Oral Biol. **2016**, 73.

22. Pilmis, B.; Puel, A.; Lortholary, O.; Lanternier, F. Clin. Microbio. Infect. **2016**, 22, 8.

23. Sanglard, D.; Odds, F.C. Lancet Infect. Dis. **2002**, 2, 2.

24. Sartoratto, A., Machado, A. L. M., Delarmelina, C., Figueira, G. M., Duarte, M. C. T., Rehder, V. L. G. Braz. J. Microbiol. **2004**, 35.

25. Seixas, P. T. L., Castro, H. C., Santos, G. R., Cardoso, D. P. Ver. Bras. Plant. Med. **2011**, 13, 1.

26. Spader, T. B.; Tese de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, **2017**.

27. Staub, I., Cruz, Á. S., Pinto, T. D. J. A., Schapoval, E. E. S., Bergold, A. M. (2007). Determinação da segurança biológica do xampu de cetoconazol: teste de irritação ocular e avaliação do potencial de citotoxicidade in vitro. Rev. Bras. Ciên. Farm. **2007**, 43(2), 301-307.

28. Tolba, H., Moghrani, H., Benelmouffok, A., Kellou, D., Maachi, R. J. Mycolo. Méd. **2015**, 25, 4.

29. Vieira, M., Bessa, L.J., Martins, M.R., Arantes, S., Teixeira, A.P.S., Mendes, A. Chem. Biod. **2017**, 14.

30. Wingard, J.R. Clin. Infect. Dis.**1995**, 20, 1.

31. Zore, G. B., Thakre, A. D., Jadhav, S., Karuppayil, S. M. Phytomed., Oxford. **2011**, 18, 13.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

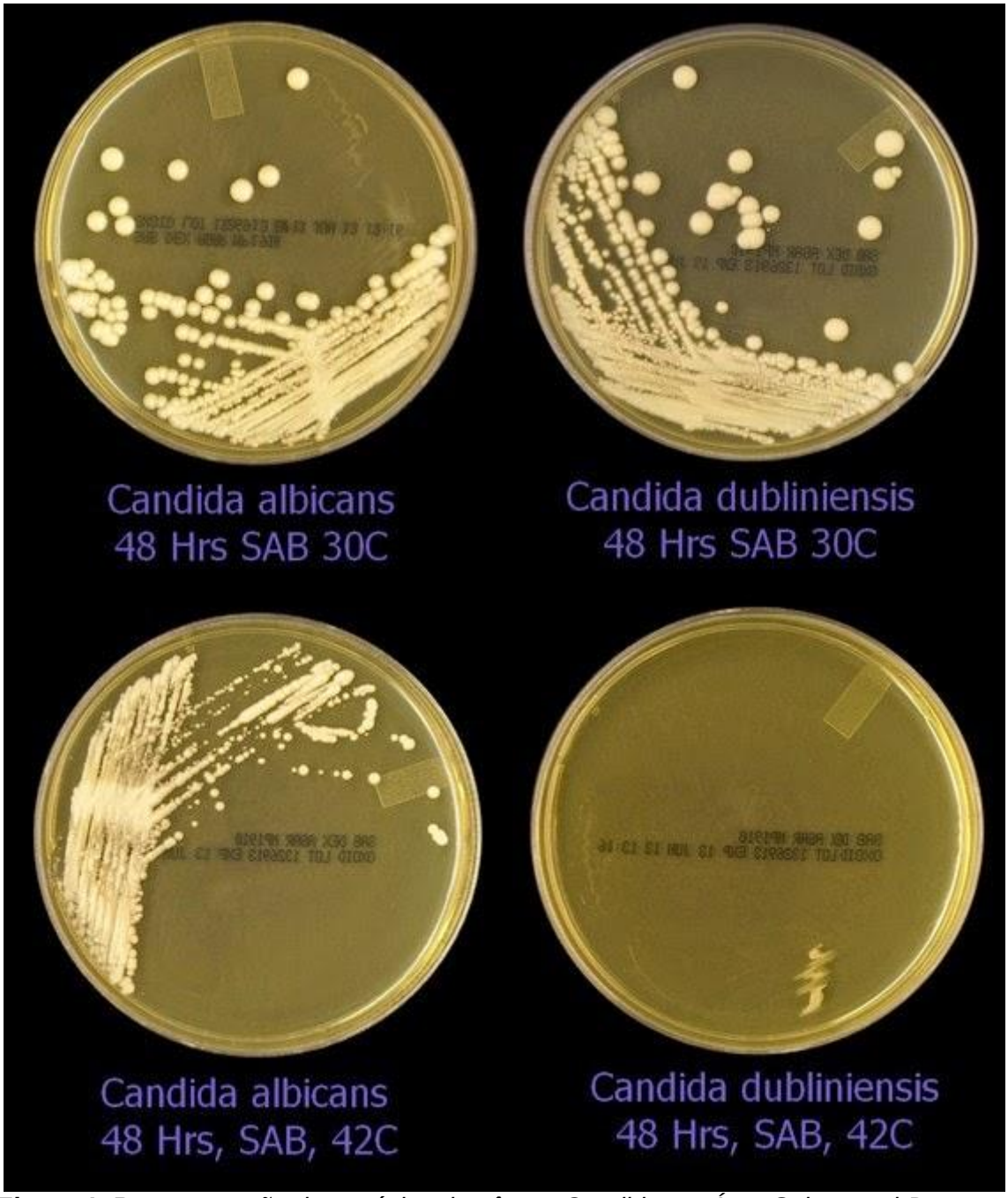
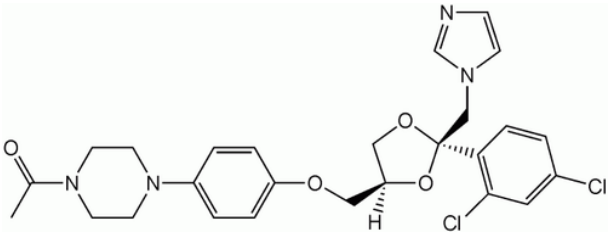
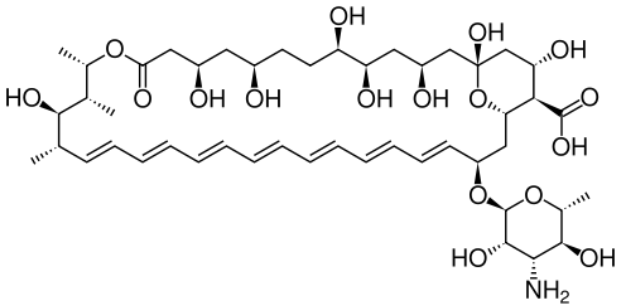


Figura 1. *Representação de espécies do gênero Candida em Ágar Sabouraud-Dextrose*
Fonte: http://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/2009/12/candida-albicans.html, 2018.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Quadro 1. *Demonstração da estrutura química e espectro de ação dos antifúngicos utilizados.*

Antifúnicos	Estrutura química	Espectro de ação
Cetoconazol	 Fonte imagem: http://www.wikiwand.com/pt/Cetoconazol	*Candida*, *Histoplasma,capsulatum*, *Aspergillus* spp, *Sporothrix schenckii*.
Anfotericina B	 Fonte imagem: https://pt.wikipedia.org/wiki/Polieno	Antifúngico com maior espectro de ação. Leveduras clinicamente importantes (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*); Microorganismos responsáveis por micoses endêmicas (*Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatitidis*) e fungos filamentosos patogênicos (*Aspergillus Fumigatus*)

Fonte: Staub *et al*., 2007; Ganis *et al*., 1971.

Tabela 1*. Resultados das CIMs do cetoconazol e anfotericina B e as CIMs e CFMs do citronelal frente às cepas estudadas*

Cepas	Citronelal (µg/mL)		Cetoconazol (µg/mL)	Anfotericina B (µg/mL)
	CIM	CIM	CIM	CFM
ICB 12	500	64	0,03125	2000
ATCC 76615	500	8	0,125	2000
LM – 393	250	250	0,25	250
LM – 410	250	31,25	0,25	250
LM – 178	250	250	0,5	250

Fonte: Autores, 2018.

Tabela 2*. Concentração Inibitória Mínima (CIM - µg/mL) e Índice de Concentração Inibitória Fracionada (ICIF) depois da combinação do citronelal com a Anfotericina B sobre cepa de C. albicans ICB-12 e ATCC 76615.*

Cepa	CIM das drogas associadas (µg/mL)		CIF[a]		ICIF[b]	Interação
	Citronelal	Anfotericina B	Citronelal	Anfotericina B		
ICB-12	500	0,004	1	0,125	1,125	Indiferente
ATCC 76615	1000	0,125	2	1	3	Indiferente

[a]Concentração Inibitória Fracional; [b]Índice CIF; Fonte: Autores, 2018.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

***Tabela 3**. Concentração Inibitória Mínima (CIM - µg/mL) e Índice de Concentração Inibitória Fracionada (ICIF) depois da combinação do citronelal com o cetoconazol sobre cepa de C. albicans ICB-12 e ATCC 76615.*

Cepa	CIM das drogas associadas (µg/mL)		CIF[a]		ICIF[b]	Interação
	Citronelal	Cetoconazol	Citronelal	Cetoconazol		
ICB-12	500	8	1	0,125	1,125	Indiferente
ATCC 76615	62,5	4	0,125	0,5	0,625	Aditivo

[a]Concentração Inibitória Fracional; [b]Índice CIF; Fonte: Autores, 2018.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

VALIDAÇÃO DO PROJETO E DOS PARÂMETROS PADRÕES DO MOEDOR DE GRÃOS ÚMIDOS DE PLANTAS LEGUMINOSAS (COMO EXEMPLO, O GRÃO DE SOJA)

SUBSTANTIATION OF DESIGN AND STANDARD PARAMETERS OF CHOPPER OF SOAKED GRAIN OF LEGUMINOUS PLANTS (AS AN EXAMPLE OF THE SOYA GRAIN)

ОБОСНОВАНИЕ КОНСТРУКТИВНО-РЕЖИМНЫХ ПАРАМЕТРОВ ИЗМЕЛЬЧИТЕЛЯ ЗАМОЧЕННОГО ЗЕРНА ЗЕРНОБОБОВЫХ КУЛЬТУР (НА ПРИМЕРЕ ЗЕРНА СОИ)

FROLOV, Vladimir Ju.*, KLASNER, Georgy G., SYSOEV, Denis P.

Federal State-funded Educational Institution of Higher Professional Education
"Kuban State Agrarian University"
13 Kalinina Str., 350044 Krasnodar, Russian Federation

** Corresponding author*
egor.klasner.91@mail.ru

Received 2018; received in revised form 23 September 2018; accepted 2018

RESUMO

A maneira mais eficiente de preparar as sementes das leguminosas para a ração animal é a produção da emulsão proteica. Existem diversas maneiras para se obter a emulsão de proteína. No entanto, o processo de operações é fornecido para o uso de máquinas de grande escala, com alto consumo de energia e caras, que muitas vezes não podem ser oferecidas pelas pequenas empresas que produzem hoje mais de 50% de produtos de animais e aves. Desta forma, é necessário desenvolver uma tecnologia universal para fazer a emulsão proteica aplicada em pequenas propriedades. O objetivo da pesquisa é o desenvolvimento de uma tecnologia livre de resíduos para fabricar a emulsão proteica para a ração animal. Partindo da busca de patentes por tecnologias e projetos para fazer uma emulsão proteína, oferecemos uma tecnologia livre de resíduos, que permite unir um grande número de operações tecnológicas (corte, extração, divisão de suspensão em frações) em uma única operação, usando um novo equipamento, a Patente RF No. 2614777. Pesquisas teóricas e experimentais de processos de corte dos grãos e extração de proteína de soja em emulsão foram descritas. O desenho principal e os parâmetros padrão do dispositivo desenvolvido foram comprovados teórica e experimentalmente.

Palavras-chave: Moedor de grão encharcado, proteína de soja, emulsão proteica.

ABSTRACT

The most efficient way to prepare the leguminous plants' seeds for the livestock animal food is making of the protein emulsion. There are a lot of ways of obtaining the protein emulsion. However, process operations provide for the use of large-scale, energy-intensive and expensive machines, which often cannot be afforded by the small enterprises producing more than 50% of animal and poultry products today. This way, it is necessary to develop a universal technology of making the protein emulsion applied in small holdings. The research objective is the development of a waste-free technology of making the protein emulsion for animal food. Proceeding from the patent search for technologies and designs to make a protein emulsion we offered a waste-free technology, which makes it possible to unite a whole number of technological operations (chopping, extraction, a division of suspension into fractions) into one operation through using a new facility, the RF Patent No. 2614777. Theoretical and experimental research of processes of the grain chopping and the soy protein extraction into emulsion was described. The main design and standard parameters of the device developed were substantiated theoretically and experimentally.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Keywords: chopper of the soaked grain, soy protein, protein emulsion.

АННОТАЦИЯ

Наиболее эффективный путь подготовки семян бобовых культур на корм сельскохозяйственным животным – приготовление белковой эмульсии. Существует множество способов получения белковой эмульсии. Однако осуществление технологических операций предусматривает применение крупногабаритных, энергоемких и дорогостоящих машин, которые зачастую не по силам предприятиям малых форм хозяйственности, производящим на сегодняшний день более 50 % продукции животноводства и птицеводства. Таким образом, возникает потребность в разработке универсальной технологии приготовления белковой эмульсии, применимой в условиях ведения личного подсобного хозяйства. Целью исследования является разработка безотходной технологии приготовления белковой эмульсии на корм животным, реализуемой с помощью одного технического средства. На основании патентного поиска технологий и конструкций для приготовления белковой эмульсии нами предложена безотходная технология, позволяющая объединить целый ряд технологических операций (измельчение, экстракция, разделение суспензии на фракции) в одну, за счет использования нового технического средства (патент РФ № 2614777). Приведены теоретические и экспериментальные исследования процессов измельчения зерна и экстракции соевого белка в эмульсию. Теоретически и экспериментально обоснованы основные конструктивно-режимные параметры разрабатываемого устройства.

Ключевые слова: измельчитель замоченного зерна, соевый белок, белковая эмульсия, абразивный диск

INTRODUCTION

The soya is one of the most nutritious agricultural crops. The protein meal, oilcake, full-fatsoy flour, soya milk, fodder phosphatides, stock feed, straw, chaff, and herbage are used for the animal food. Its seeds contain up to 26% of fat, and about 40% of protein, 34.9% of carbohydrates, and its fodder value are 1.45 fodder units in 1 kg of the grain (Bartashevich, 2006). In addition, the soy protein is rich in amino acids favoring the protein digestion (Burobkin and Kazarinov, 2005). When such substances are fed to animals, they significantly increase the rations' biological value and assure the productivity increase.

Although the soya beans have high nutritive value, they cannot be fed when they are raw because they contain the anti-nutritional biologically active substances, which can give rise to allergic, endocrine and rachitic disorders (Begeulov, 2006; Dotsenko and Bibik, 1997). Those anti-nutritional substances content can be reduced to safe concentration by means of processing the grain into the high-protein fodders with the thermal treatment.

The most efficient way of using the soy seeds for the livestock animal food is to make the soya milk, which is close to the cow milk in terms of its features (Akaeva and Petrova, 2007; Bazanova *et al.*, 1967). The milk is used to feed calves and piglets (Ryadchikov, 2008), which makes it possible to save much-unskimmed milk.

The soya milk is also used to feed the milk cattle. In this case, high-carbohydrate additives may not be used. The soya milk application makes it possible to increase the milk yields and fat content, especially in early lactation. The fat content increases by 1–2 % (McCance and Widdowson, 2006), the additional production of 1.5-3 liters are stimulated in the first three months of lactation (Vysotski, 2001). Treacle is often added to the soya milk to improve the digestion and nutrient availability and, therefore, to make the lactogenesis more intense (Alyoshkin, 1995; Baranov, 2001; Konakov, 2001; Furtsev and Sayapina, 1991).

There are a lot of ways and facilities making it possible to obtain the soya milk. In this case, the main operations of making the soya

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

milk are as follows: chopping, extraction, division into liquid and solid fractions, thermal treatment, cooling, and storage. All of that makes it necessary to acquire the whole complex of large-scale, energy-intensive and expensive machines, which often cannot be afforded by the small enterprises producing more than 50% of animal and poultry products today (Burobkin and Kazarinov, 2005).

Scientific research of the facilities' operational process to chop different crops, which was performed by A. A. Artyushin, V. R. Alyoshkin (1993, 1995), R. V. Solntsev (2000), I. Z. Barfakov, V. G. Gopka, B. I. Vagin, G. M. Kukta, L. M. Kytsyn, S. M. Dotsenko *et al.* (2002, 2004), V. Ju. Frolov *et al.* (1996), A. V. Burmaga, and other authors, became determinative when developing and improving the existing machinery. It is noted that there is no universal equipment to prepare for the protein food feeding in medium and small livestock businesses (Pilipenko and Timapovsky, 1989).

This way, it is necessary to develop a universal facility, which would be able to combine such technological operations as chopping, protein extraction and division of suspension into fractions.

MATERIALS AND METHODS

Analysis of production lines to produce the soya milk showed (Baikin *et al.*, 2007; Begeulov, 2006; Dotsenko and Bibik, 1997; Frolov and Sysoev, 2016) that the most intense protein yield during extraction takes place during the use of the chopped dry finer soya grain (the 0.35-0.5 mm flour). However, the process of energy consumption is quite high. So, it is unacceptable to use the technologies based on chopping off the dry soya grain into the flour in small farms because of high energy consumption and metal consumption of the equipment with rather low consumption of the fodder product. In view of the above, the most rational production line schemes in the farm businesses are the schemes, in which the soaked soya grain is chopped, which makes it possible to lower the power inputs because the latter becomes less firm.

As a result of the exploratory research, we offer a waste-free technology of making the high-quality fodders on the basis of the soya grain, which includes a fundamentally new chopper of the soaked soya grain, which makes it possible to obtain the soya milk and high-protein fodder base – okara as a processing product (Figure 1).

The technology of producing the soy protein is as follows (Frolov *et al.*, 1998; Frolov and Sysoev, 2013). The soya grain is preliminarily soaked for 8 hours, and then it is fed simultaneously with water at the ratio of 1:10 to the processing chamber, in which the latter is chopped with simultaneous division into the insoluble soya residue and suspension.

The suspension is accumulated to the inactivator vessel, where it is treated thermally with the steam generator. The inactivated suspension is coagulated with the $CaCl_2$ solution, and it is divided into the whey and the soy protein.

Apart from that, in prospect it is possible to obtain, according to the technology developed, the soy processing products (dry soya milk, soy protein, "tofu" soya curd) to use them in the food manufacturing industry and as food additives (Dotsenko *et al.*, 2012, 2014).

The main element of the developed technology is the chopper of the soaked grain (Figure 2), whose technical result is the improvement of chopping quality and enhancement of functional capabilities through obtaining the fine milling of the products, reduction of energy consumption of the operating process by means of chopping of the soaked grain.

The technical novelty of the offered device is confirmed by the RF patents for invention No. 2614777 dated 29.03.2017 "Device for chopping the soaked leguminous plants grain", No. 2621274 dated 01.06.2017 "Device for obtainment of the protein suspension out of the leguminous plants grain".

As a result of the analysis of the operating process of similar facilities, the main analytical dependences were obtained (Klasner *et al.*, 2014) on substantiation of the design and standard parameters of the chopper developed.

The chopper's productivity or throughput capacity can be determined from the formula of B. P. Goryachkin (2001) with a preliminary determination of the whole quantity of the product, which simultaneously covers the whole surface of the chopping disk (G) and the soaking time (T):

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

$$Q_w = g_0 \frac{\pi R^2 \left(k^2 - 1\right) \upsilon_r}{k^3 S_r}, \quad \text{(Eq. 1)}$$

where g_0 – the grain load, kg/m^2;

υ_r – velocity of the particle movement along the furrow, m/s;

R – rotating disk radius, m;

k – disk constant, k=R/r;

S_r – the length of the arc along which the chopped particle moves, m.

The velocity of rotation of the lower disk $\boldsymbol{\upsilon_r}$ is determined from the formula:

$$\upsilon_r = \sqrt{r^2\omega^2 - 2f\left(g + \frac{G}{m}\right)S_r}, \quad \text{(Eq. 2)}$$

where r – distance from the disk center to the grain, m;

ω – rotational velocity of the grain, rad/s;

m – grain mass, kg;

G – the force of the upper disk pressure on the grain;

g – acceleration of gravity, m/s^2.

The expression describing the length of arc $\mathbf{S_r}$ is as follows:

$$S_r = \frac{r}{a}\sqrt{1 + a^2} + C_2, \quad \text{(Eq. 3)}$$

where a = r/rφ= const;

C_2 – arbitrary constant.

The capacity required to chop the soaked soya grain is determined as:

$$N_ц = g_0 \frac{\pi R^2 \left(k^2 - 1\right) \upsilon_r}{k^3 S_r} r, \quad \text{(Eq. 4)}$$

with account taken of the Equations 2 and 3, we obtain:

$$N_w = g_0 \frac{\pi R^2 (K^2 - 1)\sqrt{r^2\omega^2 - 2f\left(g + \frac{G}{m}\right)\frac{r}{a}\sqrt{1+a^2} + C_2}}{k^3 \frac{r}{a}\sqrt{1+a^2} + C_2}. \quad \text{(Eq. 5)}$$

When analyzing Eq. 5 one can conclude that the power inputs for the chopping process of the soaked soya grain depend on its design and standard parameters, the determining influence is exerted by the velocity of rotation of disk $\boldsymbol{\upsilon_r}$ and time of chopping of the soya grain, which depends on the path length.

The analytical dependences, which were obtained as a result of the theoretical research, express the functional connection between the design and standard indexes influencing the grain chopping process. Those dependencies make it possible to reveal the qualitative and quantitative sides of the influence of the said factors with some prerequisites and assumptions. So, the theoretical conclusions about the significance of the influence of some factors upon the soya grain chopping process with subsequent extraction of the protein require the experimental verification.

In the experiments on researching the soya grain chopping process with subsequent extraction of the protein, it is necessary to verify the theoretical prerequisites and to specify the initial data required to select the optimal design and standard parameters of the chopper of the soaked soya grain.

RESULTS AND DISCUSSION

The experimental research was conducted on the Barra soya variety. 6 experimental samples with 10 grains in each sample were selected out of the whole batch of the soya grain. The grain's average length made up 6 mm. The mass of 10 grains was 1.767, the volume of 10 grains made up 1.4 ml when the grain's absolute humidity was 10%. The experiment was carried out with the room temperature (20–22 °C). According to the obtained values the graph of the dependence of increase in mass (m), volume (v) and length (L) of the grain on the soaking time was constructed (Figure 3) (Valge, 2002; Melnikov *et al.*, 1980).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Analysis of the graph (Figure 3) showed that the optimal time (*T*) of the soya grain soaking makes up 6–7 hours (the knock point on Figure 3). During the 6-hour soaking the grain's length, mass and volume make up L = 13 mm, m = 0.36 g, $V = 0.34 \cdot 10^{-6}$ m^3. Further increase in time of the soya grain soaking is inefficient since when the grain is soaked for 24 hours, m = 0.434 g, $V = 0.38 \cdot 10^{-6}$ m^3, and no change of the geometrical dimensions of soya is changed.

When knowing the change of the grain's mass and volume depending on the soaking time, we can calculate the change of the grain density (Figure 4) (Aret *et al.*, 2009). As the soaking time increases up to 7 hours, the grain density is lowered and makes up ρ= 1.088 g/ml. It is not reasonable to continue increasing the soaking time since later on the density reduction becomes somewhat stable.

While optimizing the operating process of the chopper of the soaked grain (Frolov *et al.*, 2014, 2015), the quality of the finished product, as well as the technological parameters of the process of obtaining the soya milk and curd, were studied.

While processing the experiment results the dependences of the suspense water duty with the extracting agent temperature of 55–60° C were constructed (Figure 5).

Dependence of the protein yield into the extract is based on physical and chemical properties of solving the high-molecular organic compounds in the offered technology, and the extracting agent is potable water.

Analysis of the graph (Figure 5) makes it possible to conclude that the extracting agent is actively saturated to the water duty value of 1:10, and when the water duty continuous to increase, the saturation becomes somewhat stable.

The rotation frequency of the moving disk (Figure 7) and the clearance between it and the fixed disk (Figure 8) influences the protein yield significantly.

The analysis of dependence in Figure 7 makes it clear that the lower limit of the rotation frequency of the moving disk of the chopper, should be not less than $2.4 \cdot 10^3$ min^{-1}. Otherwise, because of the low frequency of the disk rotation, the soaked grain is not chopped sufficiently finely, which leads to incomplete protein extraction.

However, as the rotation frequency of the moving disk grows, the power inputs increase too. When the rotation frequency is $2 \cdot 10^3$ min^{-1}, the power inputs are 0.016 kW h/kg, and when the rotation frequency is $2.6 \cdot 10^3$ min^{-1} the power inputs are 0.0168 kW h/kg. The foregoing shows that as the rotation frequency of the moving disk grows, the specific power inputs increase but just insignificantly, so $2{,}5 \cdot 10^3$ – $2{,}6 \cdot 10^3$min^{-1} should be considered as the rational rotation frequency of the moving disk.

As a result of the experimental research, one can see the strong influence of the value of the clearance between the moving disk and fixed disk of the chopper upon the protein extraction (Figure 8). So, as the clearance increases from 3 to 5 mm, the protein yield is reduced dramatically from $23.3 \cdot 10^{-3}$ to $18.2 \cdot 10^{-3}$ kg. At the same time, as the clearance grows, the power inputs are reduced.

This is due to decrease in the fineness degree of the soaked grain, which, in its turn, leads to decrease in the power inputs and reduction of the square of contact of the milling particle with the extracting agent. However, with the 3 mm clearance the process energy consumption makes up 0.0165 kW h/kg, and with the 5 mm clearance – 0.0186 kW h/kg. So, the 3 mm clearance should be considered rational.

Analysis of dependence (Figure 9) shows that as the rotation frequency of the moving disk of the chopper increases, the productivity increases from 0.1 kg/s, when n = 1800 min^{-1}, to 0.25 kg/s with 2600 min^{-1}. The dependence built on the basis of the theoretical research is well coordinated with the experiment. The divergence of results does not exceed 4.5–6%.

The analytical dependences are obtained to determine the productivity and the capacity, which make it possible to optimize the rotation frequency of the lower disk 2.6× min and the 3 mm clearance between the moving disk and fixed disk.

The obtained experimental dependences made it possible to select the rational values of the water duty ŋ = 1:10; the extracting agent temperature t = 55–60 °C. With those values, the process energy consumption is N = 0.0165 kW·H/kg, and the productivity is Q = 0.24 kg/s.

Application of the fodder soya milk as a protein additive to the fodders for various groups of animals enables (Aret *et al.*, 2006):

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

a) full or partial replacement of the unskimmed milk, the skim milk in milking the young cattle and pigs;

b) to optimize the time of fattening the animals to the market weight. The neat cattle to 16 months, pigs to 135–140 days, poultry to 35–38 days;

c) to increase the cows' yield of milk to 2-3 liters through the addition of 3–4 liters of the fodder soya milk to the rations. The cost price of 1 liter of the soya milk, according to the technology offered, is 2.3 rubles, with the average purchase price of the unskimmed milk of 17 rubles, under the circumstances, the profitability makes up 369.6 %.

CONCLUSIONS:

The performed analysis of the ways, technologies, and facilities to make the high-quality fodders with the use of the soya grain, made it possible to conclude that they are inefficient in the small holdings, small farms since they are metal-intensive and energy-intensive. The analysis also made it possible to reveal a promising area of improving the technologies and the mechanical means of making the high-protein fodders.

There was offered a rational waste-free technology of making the high-quality and high-protein fodders on the basis of the soya grain, which includes a fundamentally new chopper of the soaked grain, whose main elements are as follows: the loading neck, two abrasive disks (one disk is fixed, and the other one is marked with curved furrows), the sieve making it possible to obtain the soya milk and the high-protein base (okara) as a product.

ACKNOWLEDGEMENTS

The research was conducted with financial support from Foundation for Assistance to Small Innovative Enterprises (Grant U.M.N.I.K. under the Grant Contract No. 3784 gu1/2014 dated 29.10.2014).

REFERENCES:

1. Alyoshkin, V. R.; *Making the Process and Facilities of Mechanization of the Fodders Chopping More Efficient, Doctoral thesis,* Kirov, 1995.
2. Alyoshkin, V. R.; *Livestock Production Engineering*; Alyoshkin, V.R.; Roschin, P. M., eds.; Kolos: Moscow, 1993.
3. Akaeva, T. K.; Petrova, S. N.; *Fundamentals of Chemistry and Technology of Obtainment and Processing of Fats. Technology of Obtaining the Vegetable Oils*, Ivanovo State University of Chemistry and Technology: Ivanovo, 2007.
4. Aret, V. A.; Nikolaev, B. L.; Zabrovsky, T. P.; Nikolaev, L. K.; *Rheological Fundamentals of Calculation of Equipment of Production of Fat-Containing Food Products,* St.Petersburg State University Low-Temperature and Food Technologies: St.Petersburg, 2006.
5. Aret, V. A.; Nikolaev, B. L.; Nikolaev, L. K.; *Physical and Mechanical Properties of Raw Materials and Finished Products,* GIORD: St.Petersburg, 2009.
6. Bartashevich, N. A.; *Intensification of Oil Extraction by Means of Pressing of Far Eastern Varieties of the Soya Seeds*; *PhD thesis*, Vladivostok, 2006.
7. Baikin, S. V.; Kurochkin, A. A.; Shaburova, G. V.; Afanasiev, A. S.; *Technological Equipment to Process the Plant Products,* Kolos: Moscow, 2007.
8. McCance, R. A.; Widdowson, E. M.; *Chemical Composition and Energy Value of the Food Products*; Baturin, A. K., ed. of English transl. St.Petersburg: Professiya, 2006.
9. Bazanova, N. U.; Baryshnikov, I. A.; Berkovich, E. M.; Mescheryakova, M. F.; Parshutin, G. V.; Safonov, N. A.; *Physiology of Livestock Animals,* Kolos: Moscow, 1967.
10. Baranov, N. F.; *Improvement of Technological Processes and Facilities to make the Fodders for Agricultural Production on the Basis of the Rotary Choppers, Doctoral thesis*, Kirov, 2001.
11. Begeulov, M. Sh. *Fundamentals of the Soya Processing*, Deliprint: Moscow, 2006.
12. Burobkin, I. N.; Kazarinov, B. N.; Specificity of the Livestock Sector Development at the Present Stage; *Economics of Agricultural and Processing*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Enterprises **2005**, 1, 18.

13. Vysotski, V. G.; *Biomedical Aspects of the Food Use of the Soya Protein Products*, Moscow, 2001.
14. Valge, A. M.; *Processing of Experimental Data and Modeling of Dynamic Systems in Performing the Research on the Agricultural Production Mechanization,* St.Peterburg, 2002.
15. Goryachkin, V. P.; *Making Estimates in Construction*, Moscow, 2001.
16. Domoroschenova, M. L.; Modern Technologies of Obtaining the Food Proteins out of the Soybean Oil Meal; *Food Manufacturing Industry* **2001**, 14, 6.
17. Dotsenko, S. M.; Tilba, V. A.; Ivanov, S. A.; Abramkina, E. A.; Problem of Shortage of Protein and The Soya; *Food Manufacturing Industry* **2002**, 8, 38.
18. Dotsenko, S. M.; Bibik, I. V.; *Making the Preparation of Concentrated Fodders for Feeding the Animals more Efficient*, Blagoveschensk, 1997.
19. Dotesnko, S. M.; Skripko, O. V., Tilba, V. A.; Using Soya in Technology of the Protein-Vitamin and Protein-Carbohydrate Products; *Storage and Processing of the Agricultural Raw Materials* **2014**, 4, 45.
20. Dotsenko, S. M.; Tilba, V. A.; Skripko, O. V.; Problems of the Soya Processing for Food; *Food Manufacturing Industry* **2012**, 7, 18.
21. Dotsenko, S. M.; Ivanov, S. A.; Filonov, R. F.; Improvement of the Soya Chopping Process; *Mechanization and Electrification of the Agriculture* **2004**, 5, 19.
22. Frolov, V. Ju.; Dotsenko, S. M.; Kataev, A. S.; *Substantiation of Design of the Activator's Operating Device to Make Soya Milk,* Far Eastern State Agricultural University: Blagoveschensk, 1996.
23. Frolov, V. Ju.; Sysoev, D. P.; Klasner; G. G.; Optimization of Parameters of the Chopper of the Soaked Soya Grain; *Farm Machinery Operator* **2015**, 3, 24.
24. Frolov, V. Ju.; Dotsenko, S. M.; Samuilo, V. V.; Varaksin, S. V.; Kataev, A. S.; Way of Obtaining a Soya Product. No. 2105494 RU, B.I. 6 **1998**.
25. Frolov, V. Ju.; Sysoev, D. P.; The Evaluation of Efficiency of Using Technologies for Preparation and Distribution of Fodder at Small Farms; *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* **2016**, 7(1), 1264.
26. Frolov, V. Ju.; Sysoev, D. P.; Way of Obtaining Milk and Protein Products. No. 2477179 RU, B.I. 7 **2013**.
27. Frolov, V. Ju.; Sysoev, D. P.; Klasner; G. G.; Experimental Aspects of Process of Making High-Quality Fodders Based on Soya Grain; *Polythematic network electronic scientific journal of Kuban State Agrarian University* **2014**, 7(101), 2091, IDA: 1011407138, Available at: http://ej.kubagro.ru/2014/07/pdf/138.pdf. Accessed on 25/12/2018.
28. Furtsev, S. G.; Sayapina, T. A.; Device for Make Soya Milk in Farms; *Works of Far Eastern Research, Design and Technology Institute of Mechanization and Electrification of Agriculture* **1991**, 36.
29. Klasner, G. G.; Frolov, V. Ju.; Sysoev, D. P.; Analytical Aspects of Making the High-Protein Fodders; *Scientific Journal of Kuban State Agrarian University* **2014**, 99(05). IDA: 0991405058. Available at: http://ej.kubagro.ru/a/viewaut.asp?id=3699. Accessed on 25/12/2018.
30. Konakov, A. P.; *Equipment for Small Livestock Farms,* ProfObrIzdat: Moscow, 2001.
31. Melnikov, S. V.; Alyoshkin, V. R.; Roschin, P. M.; *Planning of the Experiment in the Agricultural Processes Research,* Kolos: Leningrad, 1980.
32. Pilipenko, A. M.; Timapovsky, L. V.; *Mechanization of Processing and Making Fodders in Small Holdings*, Rosagropromizdat: Moscow, 1989.
33. Ryadchikov, V. G.; Amino Acids and Ideal Protein in the Pigs and Birds' Rations; *Efficient Livestock Sector* **2008**, 7, 48.
34. Solntsev, R. V.; *Improvement of the Chopping Process and Substantiation of Design and Standard Parameters of the Grain Centrifugal Chopper, PhD thesis*. Voronezh, 2000.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

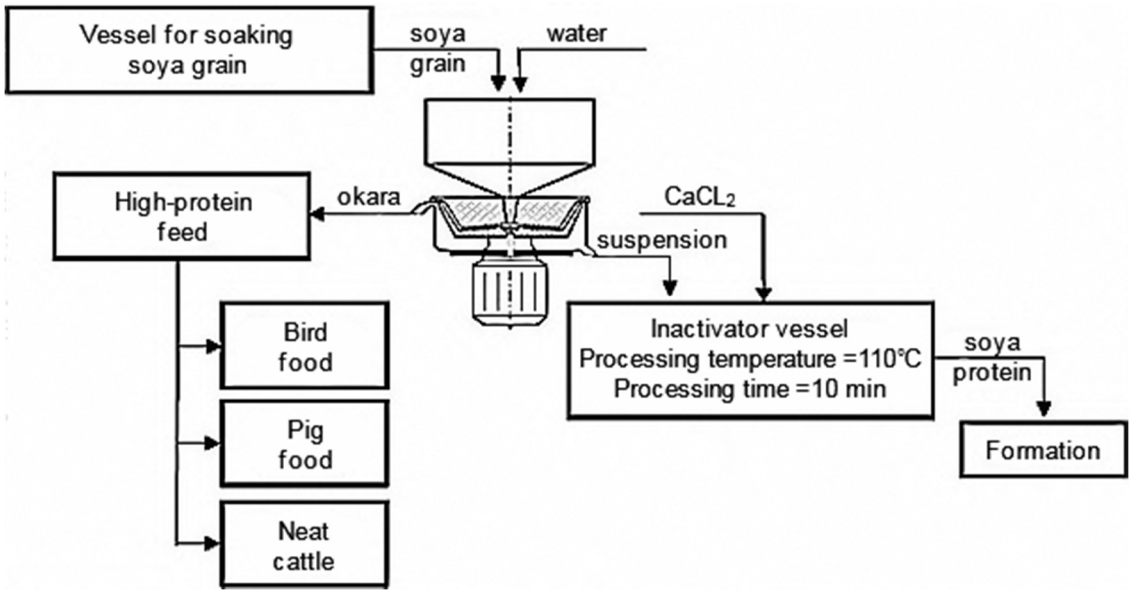


Figure 1. *Technology of making the soya milk and protein base for concentrated fodders*



Figure 2. *General view of the chopper of the soaked soya grain*

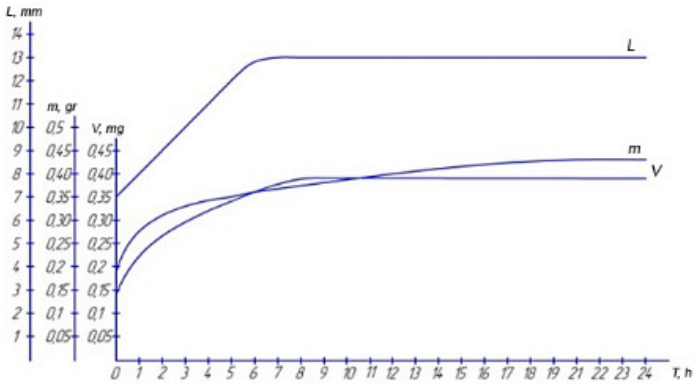


Figure 3*. Dependence of increase in mass (m), volume (v) and length (L) of grain on soaking time*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

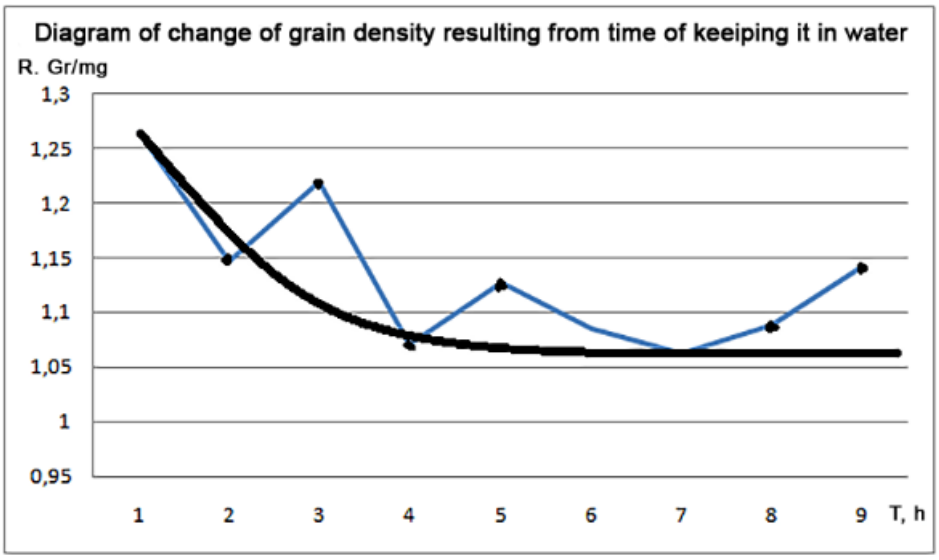


Figure 4. *Graph of dependence of density change on the soaking time*

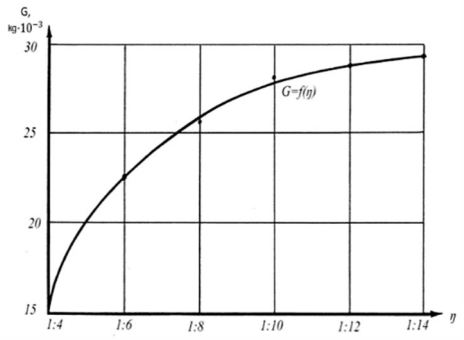


Figure 5. *Dependence of protein yield into the G extracting agent on water duty η*

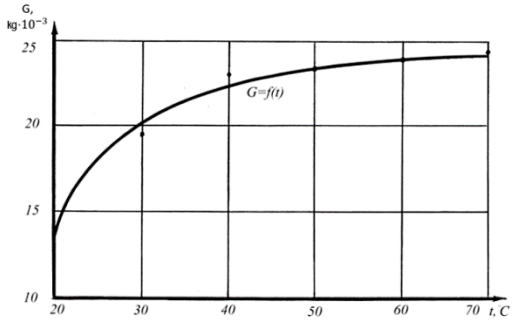


Figure 6. *Dependence of protein yield into the G extracting agent on temperature* t

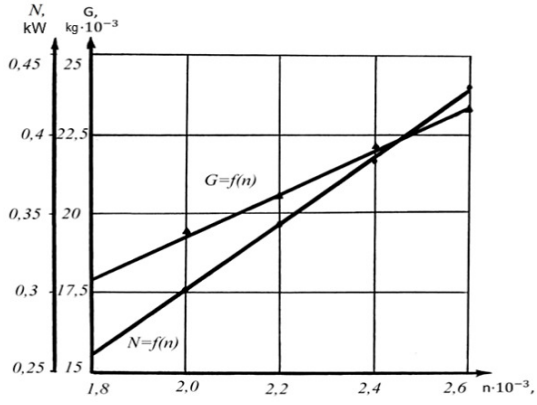


Figure 7. *Dependence of the protein yield into the extracting agent G and the energy consumption N on the rotation frequency of the moving disk of the chopper n*

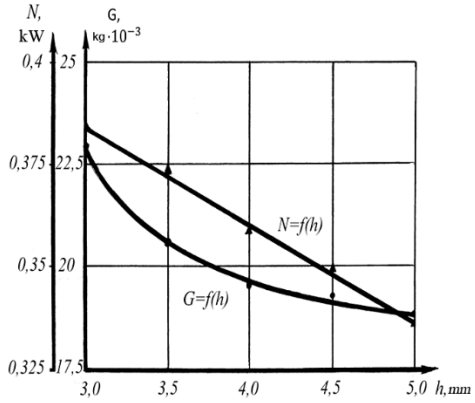


Figure 8. *Dependence of the protein yield into the extracting agent G and the energy consumption N on the clearance between the moving and fixed disk h of the chopper*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

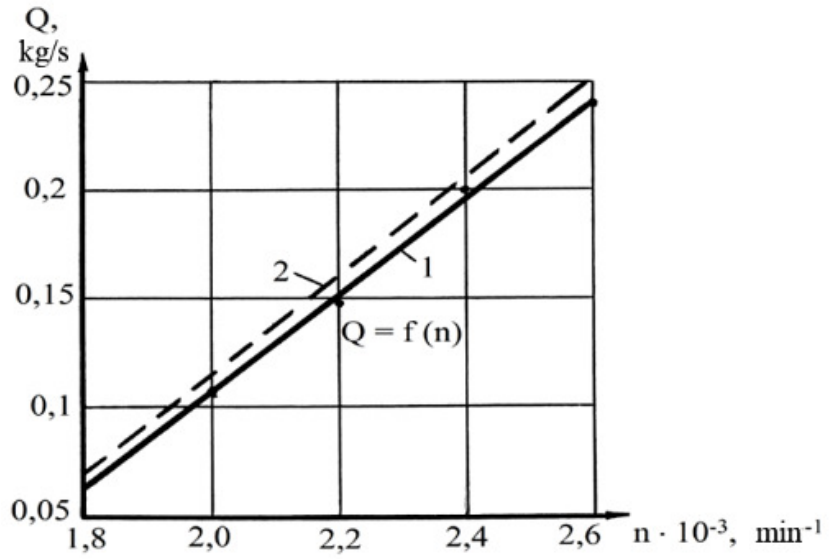


Figure 9. *Influence of the rotation frequency of the moving disk n upon the chopper's productivity. 1 — experimental; 2 – – – theoretical.*

Table 1. *Change of the grain density resulting from time of keeping it in water*

Index	**Time of the soya grain soaking in water, h**								
	0	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**24**
m, g	0.18	0.28	0.317	0.32	0.34	0.34	0.36	0.37	0.43
V, ml	0.14	0.24	0.26	0.3	0.3	0.32	0.34	0.34	0.38
ρ, g/ml	1.26	1.14	1.22	1.07	1.12	1.08	1.06	1.08	1.14

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ANÁLISE DOS EXAMES DE PERFIL GLICÊMICO E LIPÍDICO REALIZADOS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO ANA BEZERRA

EVALUATION OF THE GLYCEMIC AND LIPID PROFILE TEST PERFORMED AT THE ANA BEZERRA UNIVERSITY HOSPITAL

SANTOS, Brenda Lavínia Calixto dos[1*]; NASCIMENTO, Alana Karoline Penha do[2]; OLIVEIRA FILHO, Abrahão Alves de[3]; OLIVEIRA, Heloísa Mara Batista Fernandes de[4]

[1,2] Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, Unidade Acadêmica de Saúde, Sítio Olho D'água da Bica, S/Nº, Cep 58175000, Cuité-PB, Brasil
(fone: +55 84 3372 1900)

[3] Universidade Federal de Campina Grande, Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Avenida Universitária, Santa Cecília, S/Nº, Cep 58700-970 Patos-PB, Brasil
(fone: +55 83 3511 3045)

[4]Hospital Universitário Ana Bezerra, Praça Tequinha Farias, Centro, 13, Cep 59200000, Santa Cruz-RN, Brasil
(fone +55 84 3291 2324)

** Autor correspondente*
e-mail: bcalixto96@gmail.com

Received 2 August 2018; received in revised form 15 September 2018; accepted 26 September 2018

RESUMO

Problemas com alterações glicêmicas e lipídicas como, por exemplo, a diabetes mellitus e as dislipidemias estão afetando cada vez mais a população e envolvem o risco em desenvolver distúrbios cardiovasculares e metabólicos. A hiperglicemia persistente está associada a complicações crônicas micro e macrovasculares, aumento de morbidade, redução da qualidade de vida e elevação da taxa de mortalidade. Com isso, torna-se importante a realização de exames laboratoriais rotineiros, a fim de diagnosticar precocemente tais distúrbios que podem ser observados através dos marcadores laboratoriais. O propósito deste trabalho foi analisar os exames solicitados para a avaliação de perfil lipídico e glicêmico de pacientes atendidos no Hospital Universitário Ana Bezerra, situado em Santa Cruz, Rio Grande do Norte. Este estudo epidemiológico retrospectivo documental buscou analisar a quantidade de exames solicitados para a avaliação do perfil lipídico e glicêmico no banco de dados do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Ana Bezerra no período de junho de 2017 a junho de 2018. Nesse período, foram solicitados 17660 exames para avaliar o perfil glicêmico e 34266 exames para avaliar o perfil lipídico. O exame de glicemia de jejum e o colesterol total foram os mais solicitados.

Palavras-chave: *Glicemia, dislipidemias, marcadores laboratoriais, análises clínicas.*

ABSTRACT

Problems with glycemic and lipid changes such as diabetes mellitus and dyslipidemias are increasingly affecting the population and involve the risk of developing cardiovascular and metabolic disorders. Persistent hyperglycemia is associated with chronic micro and macrovascular complications, increased morbidity, reduced quality of life, and increased mortality rate. Therefore, it is important to perform routine laboratory tests in order to diagnose such disorders early, which can be observed through laboratory markers. The purpose of this study was to analyze the tests requested for the evaluation of the lipid and glycemic profile of patients attended at the Ana Bezerra University Hospital, located in Santa Cruz, Rio Grande do Norte. This retrospective documentary epidemiological study sought to analyze the amount of tests required for the evaluation of the lipid and glycemic profile in the database of the Laboratory of Clinical Analysis of the Hospital Universitário Ana Bezerra from June 2017 to June 2018. During this period, 17660 exams were requested to evaluate the glycemic profile and 34266 tests to evaluate the lipid profile. Fasting plasma glucose and total cholesterol were the most requested.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Keywords: *Glycemia, Dyslipidemias, Laboratory markers, Clinical analysis.*

INTRODUÇÃO

O diabetes mellitus (DM) consiste em um distúrbio metabólico caracterizado por hiperglicemia persistente, decorrente de deficiência na produção de insulina ou na sua ação, ou em ambos os mecanismos, ocasionando complicações a longo prazo. Atinge proporções epidêmicas, com estimativa de 415 milhões de portadores de DM mundialmente (Federação Internacional de Diabetes, 2015). A hiperglicemia persistente está associada a complicações crônicas micro e macrovasculares, aumento de morbidade, redução da qualidade de vida e elevação da taxa de mortalidade (Organização Mundial de Saúde, 2016). A classificação do DM tem sido baseada em sua etiologia. Os fatores causais dos principais tipos de DM – genéticos, biológicos e ambientais – ainda não são completamente conhecidos, porém, sabe-se que as dislipidemias são fatores de comorbidade para o DM (Associação Americana de Diabetes, 2017; Skyler, et al, 2017).

Paralelo a esta patologia pode-se desenvolver alterações dislipidêmicas consideradas comorbidades do DM, são definidas como distúrbios no metabolismo das lipoproteínas, como o aumento do colesterol total, da lipoproteína de baixa densidade (LDL) e dos triglicerídeos, e diminuição da lipoproteína de alta densidade (HDL), sendo desenvolvidas de acordo com a exposição a fatores genéticos e/ou ambientais (Nobre, Lamounier, Franceschini, 2013; Barbosa, Chaves, Ribeiro, 2012).

Essas alterações no perfil lipídico contribuem para o desenvolvimento da doença arterial coronariana (DAC), aterosclerose e hipertensão arterial sistêmica (HAS), sendo também secundárias à obesidade, podendo surgir durante a infância e se potencializar durante a vida, de acordo com a combinação de outros fatores, como o estilo de vida, hábitos alimentares e histórico familiar (Silva, et al, 2007).

Diversos exames laboratoriais são utilizados para traçar o perfil de cada uma dessas doenças para o diagnóstico precoce. Dessa forma, pode-se otimizar o tratamento e melhorar a qualidade de vida (Junior, 2016).

O objetivo desse trabalho foi analisar o número de exames solicitados para a avaliação de perfil lipídico e glicêmico realizados nos pacientes atendidos no Hospital Universitário Ana Bezerra (HUAB).

MATERIAL E MÉTODOS

O Hospital Universitário Ana Bezerra (HUAB) localiza-se no município de Santa Cruz, Rio Grande do Norte, a 6º13'27.5"S e 36º01'14.9"W, possui uma área de 624,356 km² e população estimada de 39.667 (IBGE, 2017). Encontra-se na Mesorregião Agreste Potiguar, apresentando o clima tropical semiárido (Oliveira, 2013).

O presente trabalho trata-se de um estudo epidemiológico delineado como retrospectivo documental, e desenvolvido no Laboratório de Análises Clínicas do HUAB utilizando-se os dados da produção de exames que avaliaram os perfis glicêmico e lipídico, recebidos no período de junho de 2017 a junho de 2018, com pacientes de ambos os sexos, todas as faixas etárias e locais de residência.

A coleta de dados foi realizada através do acesso aos dados armazenados no programa CompLab (fonte de dados gerada pelo laboratório) o qual gera um relatório mensal contendo a produção dos exames realizados. Os resultados foram organizados em planilhas no programa Excel versão 2010.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Foram realizados 17.660 exames para avaliar o perfil glicêmico no período de junho de 2017 a junho de 2018 (tabela 1).

O exame mais solicitado para triagem do perfil glicêmico foi a glicemia de jejum, correspondendo a 86,2% dos exames solicitados, seguido da hemoglobina glicada (8%), teste de tolerância oral a glicose (3%), glicemia pós café (1,7%) e os demais (1,1%), conforme dados da tabela 1.

A glicose ($C_6H_{12}O_6$) é um carboidrato do tipo monossacarídeo, existe em sua forma livre, ou em combinação com outros carboidratos. O mesmo representa a principal fonte de energia

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

primária dos seres vivos (Hirsch, 2017). Fisiologicamente, participa de diversas reações no organismo, a mais importante é a glicólise, pois garante suporte energético contínuo as células. Esse carboidrato é encontrado no sangue, o que possibilita a realização de diversos exames para sua dosagem sanguínea, que elevada pode acarretar patologias, por exemplo, diabetes mellitus (Hall, 2017).

Quando dosada a glicemia em jejum dos pacientes, o resultado apresentado fornece apenas o indício de como está o nível da glicose plasmática nas últimas horas, ao contrário da dosagem da hemoglobina glicada (A1C), fundamental no monitoramento da diabetes, uma vez que avalia a média glicêmica do paciente nos últimos 3 meses. Quando o valor da glicemia em jejum apresenta-se acima de 125 mg/dL em pelo menos duas coletas sanguíneas realizadas em momentos diferentes, tem-se o diagnóstico fidedigno para o diabetes mellitus (Souza, et al, 2012).

A monitorização glicêmica com a hemoglobina glicada (Hb1Ac), é considerada o padrão ouro, embora apresente limitações (Carlson, et al, 2017; Wright, Hirsch, 2017). O nível de hemoglobina glicada é resultado de todas as hemácias circulantes no organismo, desde a mais velha (120 dias) a mais jovem. Porém a glicose dos últimos 30 dias antes da dosagem da hemoglobina glicada contribui com praticamente 50% da HbA1c, enquanto os níveis glicêmicos dos últimos dois a quatro meses contribuem com aproximadamente 25%. Dessa forma, a hemoglobina glicada reflete, na realidade, a média ponderada dos níveis glicêmicos de 60 a 90 dias antes do exame (Sacks, 1999; Sacks, et al, 2002).

O teste de tolerância oral a glicose é um exame laboratorial que tem como objetivo a identificação de resistência à insulina. O fundamento do teste é dosar a glicose nestes intervalos e avaliar se a glicose sanguínea está a ser metabolizada pela insulina (cuja função é transportar a glicose para dentro das células e tecidos, diminuindo a sua concentração no sangue). Quando a insulina não age de forma correta, diz-se que o paciente tem resistência à insulina. Se essa resistência for muito acentuada o paciente pode desenvolver diabetes mellitus tipo II, sendo, neste caso, necessário tratamento (Carvalho, Martynetz, 2018).

O exame glicose ou glicemia pós-prandial serve para triar pacientes portadores de diabetes mellitus, no entanto, o mesmo sofre influências de alguns parâmetros sendo necessário para realizar o teste seguir algumas recomendações quanto à refeição e intervalo de tempo a ser respeitado antes do momento de retirar o sangue (Santana, 2018).

Em semelhança aos demais exames, curva insulínica, glicemia pós-almoço, glicemia pós-jantar, insulina de jejum e insulina pós-dextrosol são utilizados para avaliar o perfil glicêmico de pacientes, no entanto, são mais utilizados para ajuste de dosagem medicamentosa e troca de terapia farmacológica (Tavares, 2017, Pereira, 2017).

Para a avaliação do perfil lipídico, foram realizados 34.266 exames no mesmo período (tabela 2).

Visualizando a distribuição desses números em porcentagem, o exame mais solicitado para análise desse perfil foi o colesterol total com 35%, seguido dos triglicerídeos com 34%, lipoproteína de alta densidade (HDL) 14% e os demais, que juntos representaram 18%, valores estes observados na tabela 2.

O Colesterol é um lipídeo que integra a membrana das células do organismo. A maior parte é sintetizado no fígado e transportado no sangue por proteínas especiais, as "lipoproteínas", encarregadas da distribuição deste colesterol por todas as células do corpo, as principais são HDL e LDL. Fisiologicamente é um componente fundamental para a integridade das células e produção de hormônios. Nível elevado de colesterol é considerado fator de risco para doenças coronarianas (Cesena, 2017).

Os triglicerídeos são considerados a principal gordura originária da alimentação, mas podem também ser sintetizados pelo organismo. Diversos exames possibilitam a dosagem de colesterol e triglicerídeos no sangue, tais como: colesterol total, dosagem sanguínea de triglicerídeos, HDL, LDL e VLDL (da Silva Miranda, et al, 2015).

Estas dosagens séricas permitem determinar o risco de obstrução das artérias por formação de placas de gordura (aterosclerose). Altos níveis de colesterol geralmente não causam sintomas, por isso é importante realizar a dosagem regularmente (Raimundo, Pato, 2016).

A dosagem sanguínea de triglicerídeos mede e avalia a quantidade deste lipídeo no sangue, que é uma forma de gordura e uma fonte de

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

energia importante para o corpo. A maior parte dos triglicerídeos se encontra no tecido gorduroso (adiposo) do corpo, mas uma quantidade circula no sangue para fornecer combustível para os músculos. Níveis altos de triglicerídeos no sangue estão associados a um risco aumentado de doença cardiovascular (Martins, et al, 2016).

O colesterol HDL é a fração do colesterol ligada a lipoproteínas de alta densidade (em inglês, HDL – *high density lipoproteins*), um dos tipos de proteínas transportadoras do colesterol no sangue. As HDL, formadas por proteína e uma pequena quantidade de colesterol, são consideradas benéficas porque removem o colesterol dos tecidos e o transportam para ser metabolizado no fígado. Por isso, o colesterol HDL é chamado, com frequência, o colesterol "bom". Níveis altos de colesterol HDL podem diminuir o risco de desenvolvimento de aterosclerose, facilitando a remoção do colesterol do sangue (Martins, et al, 2016; Feitosa, et al, 2017).

Diferente da fração HDL, o LDL e o VLDL levam colesterol para as células e facilitam a deposição de gordura nos vasos, onde o LDL transporta colesterol e um pouco de triglicerídeos do sangue para os tecidos e o VLDL transporta triglicerídeos e um pouco de colesterol (Feitosa, et al, 2017).

CONCLUSÕES

Portanto, pode-se concluir que os exames mais realizados para avaliação do perfil glicêmico foi à glicose de jejum e, o mais realizado para a avaliação do perfil lipídico foi o colesterol total, estes importantes para o diagnóstico precoce de diabetes mellitus e dislipidemias, bem como o monitoramento de suas comorbidades.

Com isso, sugere-se que mais estudos sejam realizados no intuito de encontrar marcadores cada vez mais específicos e seletivos que permitam diagnosticar estes distúrbios metabólicos precocemente e, dessa forma, melhorar a qualidade de vida dos pacientes.

AGRADECIMENTOS:

Os autores agradecem ao HUAB pelo suporte para o desenvolvimento da pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. American Diabetes Association. *Diabetes Care*, 2017, 40, 1.
2. Carlson, A.L.; Mullen, D.M.; Bergenstal, R.M. *Diabetes Technol Ther*, 2017, 19.
3. Carvalho, G.T.A.; Martynetz, F.M. *Ver. UNIPLAC*, 2018, *6*, 1.
4. Cesena, F.H.Y.; Laurinavicius, A.G.; Valente, V.A.; Conceição, R.D.; Santos, R.D.; Bittencourt, M.S. *Arq. Bras. Cardiol.*, 2017,*108*, 6.
5. da Silva Miranda, G.; Rennó, L.N.; Machado, B.B.; da Silva, J.L.; Pinto, R.; de Oliveira, M. R. *Anais Simpac.*, 2015, *3*, 1.
6. Feitosa, A.C.R.; Barreto, L.T.; da Silva, I.M.; da Silva, F.F.; Filho, G.S. F. *Arq. Bras. Cardiol.*, 2017, *109*, 1.
7. Hall, J. E. *Guyton & Hall Fundamentos de Fisiologia*. *Elsevier Brasil*, 2017.
8. Hirsch, E. Tese de Graduação. Universidade Federal de Santa Catarina, 2017.
9. https://cidades.ibge.gov.br/brasil/rn/santa-cruz, acessado em julho 2018.
10. http://www. diabetesatlas.org/resources/2015-atlas.html, acessado em julho 2018.
11. Junior, J.D.C.O. Tese de Especialização. Universidade Federal do Pernambuco, 2016.
12. Nobre, L.N.; Lamounier, J.A.; Franceschini, S.C.C. *J. de Pediatr*, 2013, 89, 5.
13. Barbosa, L.; Chaves, O.C.; Ribeiro, R.C.L. *Rev. Paul. Pediatr.*, 2012, 30, 4.
14. Silva, R.A.; Kanaan, S.; Silva, L.E.; Peralta, R.H.S. *J. Bras. Patol. Med. Lab.*, 2007, 43, 2.
15. Oliveira, C.H.B. Dissertação Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2013.
16. Pereira, O.S.D.M. Tese de especialização, Universidade Federal de Santa Catarina, 2017.
17. Raimundo, V.M.; Pato, T.R. *Acta Fisiátrica*, 2016,*15*, 2.
18. Sacks, D.B.; Bruns, D.E.; Goldstein, D.E.; Maclaren, N. K.; McDonald, J. M.; Parrott, M. *Clin. Chem.*, 2002, 48, 25.
19. Sacks, D.B. Carbohydrate. In: BURTIS, C. A; ASHWOOD, E. R. (eds.). *Philadelphia: W.B.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Saunders Company, 1999, 750-808.

20. Santana, R.C.D.S.F. Tese de graduação, Universidade Federal de Sergipe, 2018.
21. Skyler, J.S.; Bakris, G.L.; Bonifacio, E.; Darsow, T.; Eckel, R.H.; Groop, L. *Diabetes*, 2017, 66, 2.
22. Souza, C.F.D.; Gross, J.L.; Gerchman, F.; Leitão, C.B. *Arq. Bras. de endocrinologia & metabologia*. São Paulo. 2012, 56, 5.
23. Tavares, M.D.G.R. Tese de graduação, Universidade Federal do Maranhão, 2017.
24. Vidal Martins, M., Danesio de Souza, J.; Oliveira Martinho, K.; Silva Franco, F.; Araújo Tinôco, A. L. *Rev. Bras. de Geriatria & Gerontologia*, 2017, *20*, 2.
25. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204871/1/9789241565257_eng.pdf, acessado em julho 2018.
26. Wright, L.A.; Hirsch, I.B. *Diabetes Technol Ther*. 2017, 19, S2.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

***Tabela 1**. Quantitativo dos exames solicitados para avaliação do perfil da glicose no Hospital Universitário Ana Bezerra no período de junho de 2017 a junho de 2018*

Exames	Quantitativo bruto	Quantitativo em %
Glicemia de jejum	15221	86,2%
Hemoglobina glicada	1417	8%
Teste de tolerância oral a glicose	527	3%
Glicemia pós café	293	1,7%
Insulina de Jejum	74	0,4%
Glicemia pós jantar	33	0,2%
Curva glicêmica	43	0,2%
Glicemia pós almoço	33	0,2%
Curva insulínica	11	0,1%
Insulina pós dextrosol	8	0%
Total	34266	100%

Fonte: Dados da pesquisa.

***Tabela 2.** Quantitativo dos exames solicitados para avaliação do perfil lipídico no Hospital Universitário Ana Bezerra no período de junho de 2017 a junho de 2018.*

Exames	Quantitativo bruto	Quantitativo em %
Colesterol total	12001	35%
Triglicerídeos	11664	34%
HDL colesterol	4644	14%
LDL colesterol	4363	13%
VLDL colesterol	1594	5%
Total	34266	100%

Fonte: Dados da pesquisa.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

EFEITO DO ULTRASSOM TERAPÊUTICO NA LIBERAÇÃO E PERMEAÇÃO DE CAFEÍNA LIPOSSOMADA EM SISTEMA DE DIFUSÃO VERTICAL

EFFECT OF THERAPEUTIC ULTRASOUND IN THE RELEASE AND PERMEATION OF CAFFEINE LIPOSOMES IN VERTICAL DIFFUSION SYSTEMS

MARQUES, Luana[1]; TASSINARY, João Alberto[1](*); Schmidtt, Bárbara[1], Bianchetti, Paula[1], Stülp, Simone[1] *

[1]Universidade do Vale do Taquari – UNIVATES, Núcleo de Eletrofotoquímica e Materiais Poliméricos.
Av. Avelino Talini, 171, CEP 95914-014, Lajeado – RS, Brasil
(fone: +55 51 3714 7000 ramal 5956)

** Simone Stülp*
e-mail: stulp@univates.br

Received 28 November 2017; received in revised form 02 October 2018; accepted 02 October 2018

RESUMO

O desenvolvimento de formulações tópicas oferecem novos sistemas de liberação de substâncias capazes de contornar as limitações da permeabilidade cutânea imposta pelo estrato córneo. Um recurso utilizado para diminuir a resistência cutânea é o Ultrassom Terapêutico, que através da fonoforese, oferece concentração adequada do ativo sobre o tecido. O estudo compara o efeito da liberação e permeação da cafeína lipossomada 5% associada ao ultrassom. Em análise de liberação utilizou-se cafeína lipossomada com o ultrassom nos tempos de 5, 10, 15 e 20 minutos. Em análise da permeação utilizou-se biomembrana de pele de cobra em tempo de 20 minutos. Observou-se diferença na liberação da substância, porém quando comparado com os tempos utilizando o ultrassom, esta se apresenta de forma mais acentuada. Em termos de permeação, houve um maior incremento associado ao ultrassom. Sendo assim, os resultados sugerem a importância da fonoforese no aumento da permeação de substâncias sobre a pele.

Palavras-chave: *Ultrassom. Fonoforese. Cafeína*.

ABSTRACT

The development of new topical formulations provides new release systems of substances that are capable of outline the limitations imposed by the skin permeability of the stratum corneum. A resource used to reduce skin resistance is Therapeutic Ultrasound that by phonophoresis provides adequate concentration of the active to the skin. The study compares the effect of the release and permeation caffeine liposomes 5% combined with ultrasound. In release analysis, caffeine liposomes in times of 5, 10, 15 and 20 minutes were used with the ultrasound. In the permeation analysis, biomembrane snake skin was used in a time of 20 minutes. A difference in the release of the substance was observed, but when compared with the times using the ultrasound, the difference was noticed more markedly so. In terms of permeation, there was a greater increase associated with ultrasound. Thus, the results suggest the importance of phonophoresis increase in permeation of substances on the skin.

Keywords: *Ultrasound. Phonophoresis. Cafeínne*.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO:

O desenvolvimento das tecnologias de encapsulação de substâncias tem possibilitado à indústria farmacêutica condutas terapêuticas que oferecem resultados mais eficientes por meio do transporte de variadas formulações de compostos ativos, os quais representam novas possibilidades de sistemas de liberação de substâncias capazes de contornar as limitações existentes na permeabilidade cutânea (SILVA *et al.*, 2010; CHORILLI *et al.*, 2017; GOH *et al.*, 2015).

A pele é impermeável a macromoléculas, tais como peptídeos, proteínas, oligonucleotídeos e DNA. As barreiras físicas e enzimáticas criam uma barreira extremamente eficiente para permeação em circunstâncias normais.

Existem diversas formas de encapsular substâncias que são utilizadas para a administração de ativos (CHORILLI *et al.*, 2017), dentre elas estão os lipossomas, que são caracterizados por apresentar uma estrutura esférica e fechada, que possui uma ou várias membranas concêntricas, as quais são compostas por moléculas de fosfolipídios, com variação no seu tamanho de 20 nm ou até dezenas de μm e espessura de membrana 4-5 nm^3 (BATISTA; CARVALHO; MAGALHÃES, 2007).

O seu sistema de liberação é bastante favorável, pois atinge características específicas que proporcionam a velocidade no transporte de ativos sobre o estrato córneo, otimizando os resultados, sendo atualmente disponíveis para a comercialização do uso em tratamentos clínicos (GOH *et al.*, 2015; BATISTA; CARVALHO; MAGALHÃES, 2007).

Assim como recursos farmacológicos estão sendo estudados, há interesse em estudos direcionados a recursos eletroterapêuticos, como o Ultrassom (US) Terapêutico, que quando associado à permeação de compostos é denominada fonoforese, apresentando o objetivo de diminuir a resistência cutânea, favorecendo a permeação transdérmica de substâncias, devido a sua capacidade de aumento da permeabilidade da membrana, acelerando a liberação de compostos ativos através do uso desta terapia (TASSINARY; BIANCHETTI; REMPEL, 2011; GUIMARÃES, 2011). A aplicação da fonoforese tem como objetivo principal oferecer concentração adequada de ativos sobre o tecido, sem causar danos (EBRAHIMI *et al.*, 2012).

O tratamento realizado por terapia ultrassônica ocorre através de vibrações mecânicas com frequência entre 1 MHz e 3 MHz, sendo que potências maiores são facilmente absorvidas por tecidos superficiais. O estímulo proporciona variadas mudanças no tecido, que consequentemente sofrerá determinadas alterações devido à tensão mecânica produzida pela onda ultrassônica (EBRAHIMI *et al.*, 2012). A utilização do US terapêutico pode ocorrer com e sem a conjugação de fármacos, sendo que quando há esta associação o efeito esperado é o incremento de permeação.

A cafeína está entre as substâncias que pode ser utilizada e empregada com a terapia de fonoforese, além de ser também veiculada ao sistema de lipossomas para acelerar o seu transporte. A cafeína é caracterizada em ser um alcalóide, pertencente ao grupo 1,3,7 – trimetilxantinas, a qual é encontrada de forma natural principalmente nas sementes de café (Coffee), e em folhas de chá verde (Camilla sinensis) (TASSINARY, BIANCHETTI; REMPEL, 2011; MARIA; MOREIRA, 2007).

Utilizada como um agente terapêutico, a cafeína exerce ação na hipoderme, promovendo ação lipolítica (TASSINARY; BIANCHETTI; REMPEL, 2011), a qual se deve à mobilização de ácidos graxos livres nos tecidos, pois aumenta a concentração de AMP cíclico dentro das células, o que estimula a atividade da enzima lipase, que atua na quebra de triglicerídeos (KRUPEK; COSTA, 2012), além de apresentar ação sobre variações especificas no sistema cardiovascular, sistema nervoso central, e homeostase de cálcio (MARIA; MOREIRA, 2007).

A permeação transdérmica de substâncias depende da afinidade do composto com o tipo celular presente nas camadas da pele, assim como a estrutura da substância, acidez do meio, pKa do ativo, entre outros fatores (CHORILLI et. al, 2007). A pele é o maior órgão do corpo, pois possui 12% de peso total, sendo constituída por três camadas, a epiderme, responsável em proteger a pele contra agressores externos, a derme, camada intermediaria que apresenta os anexos cutâneos, vasos sanguíneos, nervos e terminais nervosos, e a hipoderme, caracterizada como tela subcutânea preenchida com tecido adiposo. O estrato córneo é a última camada da epiderme, faz contato com o meio externo e é composto por

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

queratinócitos em seu citoplasma que dificultam a permeação de ativos, pois formam uma barreira protetora, evitando tanto a entrada quanto a saída de substâncias, sendo considerado o principal componente a controlar a permeação (SILVA *et al*., 2010; CHORILLI et. al, 2007; DUTRA; BIANCHETTI; STÜLP, 2013; GUIRRO; GUIRRO, 2002).

Para avaliar a permeação de substâncias, são utilizados modelos de biomembrana de pele de cobra, pois possuem similaridade com a espessura e composição lipídica do estrato córneo humano, sendo que a pele da *Boa Constrictor* é sugerida como fonte para estudos a fim de simular uma barreira cutânea de permeação *in vitro* (NUNES *et al*., 2005).

Diante disso, esse estudo teve como objetivo verificar o efeito da liberação e permeação da cafeína lipossomada associada ao ultrassom terapêutico *in vitro* a partir de um sistema de difusão vertical.

MATERIAL E MÉTODOS:

Cafeína Lipossomada 5% na forma de gel hidrossolubilizado (Inventiva, POA – Brasil), Membranas hidrofílicas de 0,45um de acetato de celulose (Sartorius Stedim Biotech), Água-álcool etílico 99,5% (Nuclear) 1:1, muda de pele de cobra (Museu de Ciências Naturais da Univates), Ultrassom Terapêutico Tone Derm, Banho ultratermostatizado Marconi, Célula de difusão vertical tipo Franz, Mesa agitadora.

Ánalise da liberação e permeação de cafeína lipossomada

O estudo de liberação da cafeína lipossomada 5% foi realizado utilizando uma célula de difusão vertical tipo Franz, preenchida com água e álcool etílico 99,5% (Nuclear) 1:1. Sobre a célula, foi disposta uma membrana de acetato de celulose (Sartorius Stedim Biotech) com porosidade de 0,45um, e posteriormente o gel, contendo a cafeína lipossomada, disposto sobre a célula de forma com que ficasse em contato com a membrana. Em seguida, a célula foi colocada dentro de um banho ultratermostatizado com água aquecida a 37 graus, a fim de simular a temperatura corpórea. O sistema estava sobre um agitador mecânico, pois dentro do compartimento receptor é colocado um agitador magnético a fim de manter a homogeneidade da amostra.

Posteriormente as análises de liberação da cafeína lipossomada foram realizadas com a aplicação do ultrassom terapêutico da marca Tone Derm, através da terapia de fonoforese, na seguinte modulação: modo contínuo, frequência de 3MHz, intensidade de 1,0W/cm².

Para a análise de permeação *in vitro* de cafeína lipossomada foi utilizado o ultrassom terapêutico com célula de difusão vertical tipo Franz com muda de pele de cobra (*Boa Constrictor*). A muda de pele de cobra foi obtida no Museu de Ciências Naturais da Univates, hidratada anteriormente com solução de azida sódica (concentração 0,002%) durante um período de 48 horas para serem utilizadas posteriormente na amostra.

Foram realizadas análises de varreduras espectrofotométricas 190 a 990nm, sendo que nos tempos de 0, 5, 10, 15 e 20 minutos, cada tempo realizado em triplicada, a absorção do composto ocorre no comprimento de onda de 257 nm. Os ensaios foram obtidos por meio de um espectrofotômetro Cary 100 Bio UV/Vis.

Todos os ensaios foram analisados com a aplicação do ultrassom terapêutico e sem a aplicação deste, os resultados foram expressos em média ± erro padrão da média (EPM). Foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk para averiguar normalidade dos dados. As amostras foram processadas por análise de variância de uma via (ANOVA) e pós-teste de Bonferroni. Para os parâmetros com dois grupos, foi utilizado o teste de t de Student. Em todos os casos, os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando $p<0,05$. Todas as análises foram realizadas utilizando o software SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versão 18.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Análises Espectrofotométricas

A partir da curva de calibração, pode-se comparar a liberação de cafeína lipossomada 5% para o meio receptor com e sem a aplicação de fonoforese nos tempos de 0, 5, 10, 15 e 20 minutos, conforme figura 1. A análise comparativa entre os grupos controle e tratado com ultrassom mostrou que nos tempos de 5, 10, 15 e 20 minutos existe diferença em termos de liberação do ativo para a solução receptora.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

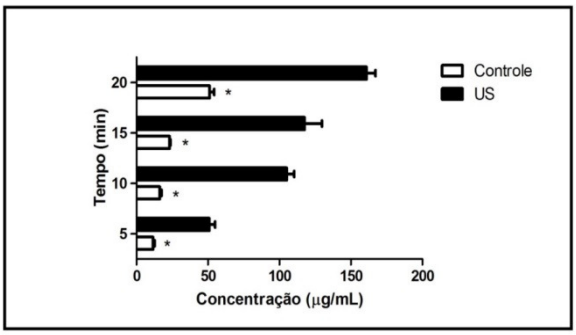


Figura 1. *Figura 1:* Efeito do ultrassom terapêutico na liberação de cafeína lipossomada nos tempos de 5, 10, 15 e 20 minutos. Dados expressos em ± SEM. * p<0.05 vs Controle

Em termos percentuais pode-se evidenciar que em 5 minutos de aplicação de fonoforese sobre o sistema de difusão, a liberação de cafeína aumentou 439,48% quando comparada com o grupo controle. Já o incremento implementado pela onda sonora na liberação do ativo quando comparado com o grupo controle no tempo de 10 minutos é de 643,77%. Nos tempos de 15 e 20 minutos o ultrassom ampliou em 507,33% e 314,67% respectivamente a liberação do ativo.

De acordo com os resultados obtidos, independentemente do tempo analisado, a onda sonora sempre incrementa a liberação da cafeína lipossomada para o meio receptor quando comparado com o grupo controle.

Estudos realizados em célula de difusão vertical, porém com outra classe de substâncias em membrana de acetato de celulose sugere que, a escolha da solução receptora para a análise de amostras depende da solubilidade da determinada substância, ou seja, a taxa de liberação é favorecida pela afinidade e característica do ativo e da fração aquosa do sistema (SILVA *et al.*, 2009).

É importante referir que a liberação do ativo elucidada no grupo controle, já é inicialmente facilitada devido à caracterização dos lipossomas de cafeína, pois classificam-se em unilamelares e são constituídos em uma bicamada e um compartimento aquoso, o qual varia de 20 a 50nm, beneficiando dessa forma a liberação do composto ativo em razão do diâmetro das partículas do lipossoma (CHORILLI et. al, 2007).

No entanto, cabe ressaltar que o ultrassom terapêutico se mostrou ainda mais efetivo nas comparações de liberação com o grupo controle, este maior desempenho pode ser incialmente atribuído aos fenômenos inerentes à onda sonora. É sabido que a fonoforese só é possível em função da utilização da força da corrente acústica que existe no ultrassom, porém os estudos ainda são muito escassos, mesmo existindo o entendimento que o mesmo consegue aumentar a absorção espectrofotométrica de algumas substancias em célula de difusão (OGURA; PALIWAL; MITRAGOTRI, 2008; VALANDRO *et al.*, 2015).

De acordo com recentes estudos relacionados à terapia de fonoforese, o mecanismo conhecido como *microstreaming* tem sido o principal agente responsável pela fonoforese, favorecendo a administração de drogas, caracterizados pelos efeitos da cavitação. Esses efeitos são definidos de acordo com o crescimento, a oscilação e o colapso de bolhas de gás que estão sobre pressão da onda sonora em um meio, neste caso, a cafeína lipossomada 5% (EBRAHIMI *et al.*, 2012).

Um estudo *in vitro* realizado com cafeína em sistema de difusão vertical elucidou a eficácia do ultrassom terapêutico no aumento da liberação do ativo para o meio receptor, como fase inicial para novas propostas de estudos envolvendo permeação (TASSINARY; BIANCHETTI; REMPEL, 2011).

Na figura 2 tem-se a comparação da liberação de cafeína lipossomada nos tempos 5, 10, 15 e 20 minutos quando submetidos ao tratamento com onda ultrassônica.

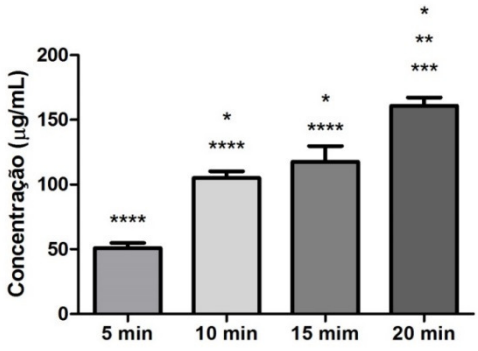


Figura 2. *Figura 2:* Análise de liberação nos tempos de 5, 10, 15 e 20 minutos com a presença de fonoforese. Dados expressos em ± SEM. *p<0,05 vs 5 min. **p<0,05 vs 10 min.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

***p<0,05 vs 15 min. ****p<0,05 vs 20 min

Os resultados demonstram que entre 5 e 10 minutos de aplicação de fonoforese houve um aumento e diferença estatística em termos de liberação do princípio ativo para o meio receptor, o mesmo acontecimento não pode ser evidenciado na comparação entre os tempos 10 e 15 minutos, em contrapartida, entre os tempos de 15 e 20 minutos a diferença estatística volta a se fazer presente. Em termos percentuais, pode-se identificar que em 10 minutos aumentou 205,96% a liberação do princípio ativo para o meio receptor utilizando a terapia de fonoforese em relação a 5 minutos. No tempo de 15 minutos houve aumento de 112% quando comparado a 10 minutos da liberação da substancia. Já em 20 minutos observou-se incremento da liberação do ativo em 136,89% comparado ao tempo de 15 minutos.

Os resultados supracitados mostraram que quanto maior for o tempo de irradiação de onda sonora no sistema estudado, maior foi a liberação do princípio ativo, sendo que a liberação é fundamental para que ocorra a permeação de determinadas substâncias subsequentemente. Alguns autores sugerem que a partir da obtenção de bons resultados da liberação de substâncias transdérmicas, pode-se identificar a ocorrência de uma permeação mais acentuada e significativa (MARTINS; VEIGA, 2002). Neste sentido, avaliou-se a permeação de cafeína lipossomada 5% em sistema de difusão vertical, porém com biomembrana de pele de cobra em tempo de 20 minutos utilizando o ultrassom terapêutico.

Em um estudo *in vitro* realizado com hidrocortisona em biomembrana de pele de cobra identificou-se o aumento de fluxo do princípio ativo em sua passagem pelo estrato córneo, sugerido quando existe o incremento do coeficiente de difusão do ativo associado com a solubilidade da substancia (DUTRA; BIANCHETTI; STÜLP, 2013).

Na figura 3 tem-se a comparação da permeação da cafeína lipossomada 5% em sistema de difusão vertical a partir do uso de pele de cobra, no tempo de 20 minutos com e sem à aplicação de fonoforese.

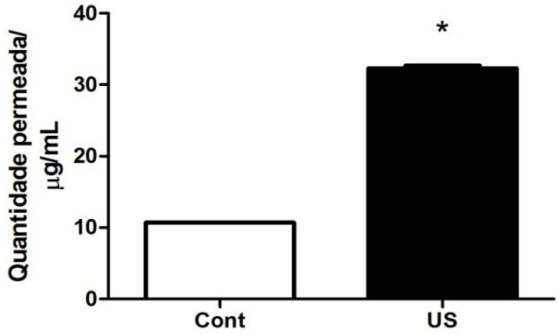


Figura 3. *Gráfico comparando a permeação de cafeína lipossomada através de muda de pele de cobra, com e sem a aplicação do ultrassom terapêutico no tempo de 20 minutos. Dados expressos em ± SEM. * p<0.05 vs Controle*

O resultado mostrou uma diferença em termos de permeação de cafeína lipossomada, sugerindo um maior incremento da substância para o meio receptor quando associada à terapia de fonoforese. Acredita-se que a velocidade de liberação e, consequentemente, de permeação variam de acordo com as características das formulações (SILVA *et al.*, 2009). Contudo, a ação física causada pela onda ultrassônica que possibilita o mecanismo da cavitação exerce um papel fundamental no transporte transdérmico em virtude da desestruturação das moléculas lipídicas do estrato córneo (EBRAHIMI *et al.*, 2012).

Vale ressaltar que em termos de permeação da substância, observou-se um aumento de 302,62% utilizando a terapia da fonoforese no tempo de 20 minutos comparando ao grupo controle, ou seja, os resultados obtidos evidenciaram maior incremento da permeação de cafeína lipossomada 5% para o meio receptor, devido a aplicação da onda sônica.

É importante reiterar, que segundo a literatura, a cafeína lipossomada por si só já apresenta altos níveis de permeação, pelo fato de a estrutura dos lipossomas ser capaz de absorver e fundir-se com a superfície da pele, induzindo alterações em regiões lipídicas intercelulares nas camadas do estrato córneo, e consequentemente favorecer a permeação de princípios ativos (BETZ *et al.*, 2005).

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

CONCLUSÕES

Estudos relatam que a terapia da fonoforese favorece o transporte de ativos devido a alterações estruturais que ocorrem no estrato córneo. Essa alteração ocorre devido à desnaturação proteica de queratina, que modifica a forma estrutural lipídica intercelular entre os corneócitos, alterando transitoriamente a permeabilidade cutânea POLAT *et al*., 2011). Além disso, outra ação produzida pelo ultrassom em tecidos é o conhecido efeito tixotrópico, responsável pela permeação de variadas substâncias (BIANCHETTI *et al*., 2009).

A ação tixotrópica é considerada um efeito fisiológico do ultrassom terapêutico capaz de diminuir a viscosidade de determinados líquidos no momento em que são agitados mecanicamente. Teoricamente, sabe-se que o efeito tixotrópico quando associado ao ultrassom terapêutico é capaz de transformar em sua prática clínica o estado em que se encontra uma determinada substância diminuindo a sua consistência (BORGES, 2006).

Ao se utilizar a ação tixotrópica, cabe também ressaltar o efeito térmico produzido pelo pulso contínuo quando associado a pressão acústica do ultrassom terapêutico que determina a entrega do princípio ativo sobre o tecido, tendo em vista que é fundamental a absorção da onda ultrassônica para que as vibrações celulares e as partículas atritem entre si, consequentemente causando o efeito térmico, considerado um fator determinante que favorece a permeabilidade da membrana (BORGES, 2006).

Outro aspecto importante para a permeação de substâncias são as vias a qual ocorre: a via transapêndices ou a via transepidérmica, sendo que esta pode ser dividida em intercelular e transcelular. A via intercelular é considerada a mais rápida para a permeação, a substância percorre a matriz extracelular por apresentar características hidrofílicas, facilitando o seu transporte. Na via transcelular a substância por estruturas lipídicas da membrana celular e pelo citoplasma dos queratinócitos, deparando-se com estruturas lipofílicas e hidrofílicas, dificultando a sua permeação (TROMMER; NEUBERT, 2006). Outra via de permeação que não pode ser considerada neste estudo devido ao modelo experimental é o folículo piloso e os ductos sudoríparos, originados na derme atingem 1% da superfície da pele, tornando irrelevante no transporte de substâncias (FRONZA, 2006). Diante disso, as características das vias de permeação cutânea requerem sistemas terapêuticos transdérmicos com características físico-químicas capazes de atender tais limitações. A ausência da utilização do ultrassom terapêutico associado à fonoforese restringe a disponibilidade da substância em seu aspecto de permeação (SAWAMURA; FRANCO, 2004).

AGRADECIMENTOS:

Os autores agradecem a Univates pelo apoio concedido.

REFERÊNCIAS:

1. Batista C.M., Carvalho C.M.B., Magalhães N.S.S. Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: Estado da arte. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas,* **2007**, 2, 43.
2. Betz G., Aeppli A., Menshutina N., *et al.*: In vivo comparison of various liposome formulations for cosmetic application. *International Journal of Pharmaceutics,* **2005**, 296, 44–54.
3. Bianchetti P., Tassinary J.A.F., Cerutti D.G.U., *et al.*: Avaliação eletroquímica e espectrofotométrica de soluções de rutina submetidas a ultrassom terapêutico. *Revista Liberato*, **2009**, 10, 139-148.
4. Borges F.S. Dermato-funcional: modalidades terapêuticas nas disfunções estéticas. São Paulo: Phorte, **2006**.
5. Chorilli M., Brizante A.C., Rodrigues C.A., *et al.*: Aspectos gerais em sistemas transdérmicos de liberação de fármacos. *Revista Brasileira Farmacêutica*, **2007**, 88, 7-13.
6. Chorilli M., Rimério T.C., Oliveira A.G., *et al.*: Estudo da estabilidade de lipossomas unilamelares pequenos contendo cafeína por turbidimetria. *Revista Brasileira Farmacêutica*, **2007**, 88, 194-199.
7. Chorilli M., Rimério T.C., Oliveira A.G., Scarpa M.V. Obtenção e Caracterização de Lipossomas Unilamelares Pequenos

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

contendo Cafeína. *Latin American Journal of Pharmacy*, 2007, 5, 26.

8. Dutra C., Bianchetti P., Stülp S. Avaliação da difusão e permeação cutânea in vitro de acetato de hidrocortisona tópica comercial. *Scientia Plena*, **2013**, 9, 10.
9. Ebrahimi S., Abbasnia K., Motealleh A., *et al.*: Effect of lidocaine phonophoresis on sensory blockade: pulsed or continuous mode of therapeutic ultrasound? *Physiotherapy*, **2012**, 98, 57–63.
10. Fronza T. Extudo exploratório de mecanismos de regulação sanitária de produtos cosméticos de base nanotecnológica no Brasil. 2006. 92f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 21 dez. 2006.
11. Goh J.Z., Tang S.N., Chiong H.S., *et al.*: Evaluation of antinociceptive activity of nanoliposome encapsulated and free-form diclofenac in rats and mice. *International Journal of Nanomedicine*, **2015**, 10.
12. Guimarães G.N., Pires-de-campos M.S.M., Leonardi G.R., *et al.*: Efeito do ultrassom e do dexapantenol na organização das fibras colágenas em lesão tegumentar. *Revista Brasileira de Fisioterapia*, **2011**, 15, 227-32.
13. Guirro E., Guirro R. Fisioterapia dermato-funcional: fundamentos, recursos, patologias. São Paulo: Manole, 2002.
14. Krupek T., Costa C.E.M. Mecanismo de ação de compostos utilizados na cosmética para o tratamento da gordura localizada e da celulite. *Revista Saúde e Pesquisa*, **2012**, 5, 555-566.
15. Maria C.A.B., Moreira R.F.A. Cafeína: revisão sobre métodos de análise. *Química Nova*, 2007, 30, 99-105.
16. Martins M.R.F.M., Veiga F. Promotores de permeação para a liberação transdérmica de fármacos:uma nova aplicação para as ciclodextrinas. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, **2002**, 1, 38.
17. Nunes R.S., Azevedo J.R., Vasconcelos A.P., *et al.* Estudo de padronização da pele de cobra espécie – Boa constrictor - como modelo de estrato córneo para permeação de fármacos. *Scientia Plena*, **2005**, 7, 171-175.
18. Ogura M., Paliwal S., Mitragotri S. Low-frequency sonophoresis: current status and future prospects. *Adv Drug Deliv Rev* **2008**, 60, 1218-1223.
19. Polat B.E., Hart D., Langer R., *et al.* Ultrasound-Mediated Transdermal Drug Delivery: Mechanisms, Scope, and Emerging Trends. *Journal Control Release*, **2011**,152, 330–348.
20. Sawamura A.M.S., Franco S.L. Sistemas Terapeuticos Transdérmicos. *Arq. Apadec*, **2004**, 1, 8.
21. Silva J.A., Apolinário A.C., Souza M.S.R., Damasceno, B.P.G.L., Medeiros, A.C.D. Administração cutânea de fármacos: desafios e estratégias para o desenvolvimento de formulações transdérmicas. *Revista Ciências Farmacêuticas Básica Apl.*, **2010**, 31, 125-131.
22. Silva J.A., Santana D.P., Bedor D.G.C., *et al.* Estudo de liberação e permeação in vitro do diclofenaco de dietilamônio em microemulsão gel-like. *Química Nova*, **2009**, 32, 1389-1393.
23. Tassinary J.A., Bianchetti P., Rempel C. Avaliação dos efeitos do ultrassom terapêutico sobre a cafeína e verificação da liberação em sistema de difusão vertical. *Quim Nova*, **2011**, 34, 1539-1543.
24. Trommer H., Neubert R.H.H. Overcoming the Stratum Corneum: The Modulation of Skin Penetration. *Skin Pharmacol Physiol*, **2006**, 19, 106–121.
25. Valandro F., Tassinary J.A.F., Bianchetti P., *et al.* Avaliação da liberação da rutina associada ao ultrassom contínuo. *Ciência e Natura*, **2015**, 37, 678-683

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

SÍNTESE E BIOENSAIO TOXICOLÓGICO DE ARILAMIDOXIMAS

SYNTHESIS AND TOXICOLOGICAL BIOASSAY OF ARYLAMIDOXIMES

OLIVEIRA, Romário Jonas[1]; SANTOS, Francirenildo Andrade[2]; MEDEIROS, Herbert Igor Rodrigues[3]; SANTOS, Cosme Silva[4]; FREITAS FILHO, João Rufino[5]; FREITAS, Juliano Carlo Rufino[6]*

[1,4,5] Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Química, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, cep 52171900, Recife-PE, Brasil
(fone: +55 81 3320 6000)

[2,3,6] Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, Acesso Professora Maria Anita Furtado Coelho, s/n, Sítio Olho D'agua da Bica, cep 58175000, Cuité-PB, Brasil
(fone: +55 83 3372 1900)

** Autor correspondente*
e-mail: julianocrufino@yahoo.com.br

Received 29 July 2018; received in revised form 11 September 2018; accepted 02 October 2018

RESUMO

As amidoximas são uma classe de compostos orgânicos que apresentam uma ampla variedade de aplicações tecnológicas, biológicas e farmacológicas. Atualmente, existem várias metodologias que visam à preparação desses compostos, contudo, alguns estudos toxicológicos de arilamidoximas estruturalmente simples ainda permanecem inexplorados. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi realizar a síntese e o bioensaio toxicológico de diferentes arilamidoximas frente à *Artemia salina* Leach. As arilamidoximas foram sintetizadas a partir da reação entre diferentes arilnitrilas e cloridrato de hidroxilamina em meio hidroetanólico, e caracterizadas por ponto de fusão, IV, RMN ^{1}H e RMN ^{13}C. O bioensaio toxicológico das arilamidoximas foi realizado utilizando à *Artemia salina* Leach e a CL_{50} foi determinada através do software POLO-PC. Como resultado, as arilamidoximas foram obtidas em tempo reacionais que variaram de 15 a 45 minutos e com bons rendimentos (55 a 91%). O bioensaio toxicológico indicou que todas as arilamidoximas testadas apresentaram toxicidade que variaram de alta a moderada com CL_{50} de 18,553 a 273,313 µg/mL. Adicionalmente, a melhor atividade foi observada para a arilamidoximas contendo o grupo metila na posição *meta*. Em suma, a atividade toxicológica encontra para as arilamidoximas reforça o potencial farmacológico desses compostos, e pode motivar os pesquisadores a promoverem modificações estruturais nestes compostos a fim de os tornarem futuros fármacos.

Palavras-chave: *Química Sintética, Bioensaio Toxicológico, Arilamidoximas, Artemia salina.*

ABSTRACT

Amidoximes are a class of organic compounds that present a wide variety of technological, biological and pharmacological applications. Currently, there are several methodologies aimed at the preparation of these compounds, however, some toxicological studies of structurally simple arylamidoximes remain unexplored. Therefore, the objective of this work was to perform the synthesis and toxicological bioassay of different arylamidoximes against *Artemia saline* Leach. The arylamidoximes were synthesized from the reaction between different arylnitriles and hydroxylamine hydrochloride in hydroethanolic medium and characterized by melting point, IR, ^{1}H NMR, and ^{13}C NMR. Toxicological bioassay of the arylamidoximes was carried out using *Artemia saline* Leach and the LC_{50} was determined using the POLO-PC software. As a result, the arylamidoximes were obtained in reaction times ranging from 15 to 45 minutes and in good yields (55 to 91%). The toxicological bioassay indicated that all arylamidoximes tested showed toxicity ranging from high to moderate with LC_{50} from 18.553 to 273.313 µg/mL. In addition, the best activity was observed for the arylamidoximes containing the methyl group in the *meta* position. In short, the toxicological activity found for arylamidoximes reinforces the pharmacological potential of these compounds and may motivate researchers to promote structural modifications in these compounds in order to make them future drugs.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Keywords: *Synthetic Chemistry, Toxicological Bioassay, Arylamidoximes, Artemia salina.*

INTRODUÇÃO

As amidoximas são uma classe de compostos orgânicos que, de acordo com a *International Union of Pure and Applied Chemistry* – IUPAC (2014), possuem uma estrutura geral $RC(NH_2)=NOH$, onde R pode ser um átomo de hidrogênio, um grupo alquila ou arila. Esses compostos orgânicos, assim como seus derivados, vêm atraindo à atenção de vários centros de pesquisa e da indústria farmacêutica, por apresentarem uma ampla variedade de aplicações tecnológicas, biológicas e farmacológicas (Freitas Filho *et al.*, 2015; Ovdiichuk e Hordiyenko, 2016). Na química sintética, por exemplo, as amidoximas e seus derivados são importantes substratos de partida para a preparação de diferentes compostos heterocíclicos, a citar benzimidazóis (Zhu *et al.*, 2014), quinazolinas (Kumar *et al.*, 2005), benzotiadiazinas (Zienkiewicz *et al.*, 2007), oxadiazóis (Cai *et al.*, 2015), imidazóis (Tang *et al.*, 2014) e triazóis (Xu *et al.*, 2015) (Figura 1).

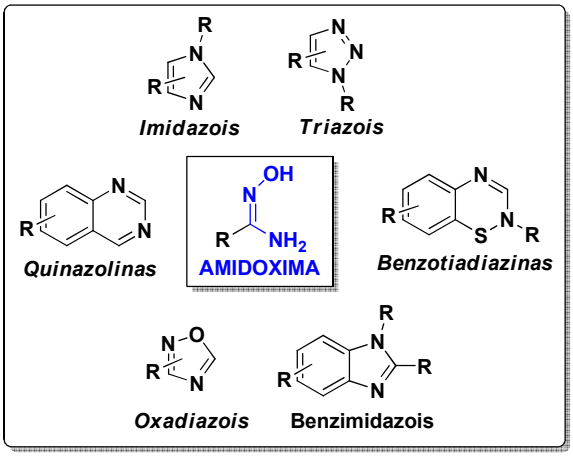


Figura 1. *Compostos heterocíclicos preparados a partir de amidoximas.*

A literatura descreve o emprego das amidoximas atuando como catalisador na reação de acoplamento cruzado do tipo Suzuki e Sonogashira, visando à construção de novas ligações C-C (Zhao *et al.*, 2014; Wu *et al.*, 2012). Já no âmbito industrial e tecnológico esses compostos podem atuar como adsorventes de gases (Mahurin *et al.*, 2014), agentes complexantes de íons metálicos em solução aquosa (Bolotin e Bokacha, 2016) e na preparação de biossensores de hidrogênio (Zhang *et al.*, 2012). As amidoximas podem desempenhar uma grande variedade de atividades biológicas e farmacológicas como, por exemplo, leishmanicida (Tabélé *et al.*, 2018), antitumoral (Bolotin *et al.*, 2017), antibacteriana (Fylaktakidou *et al.*, 2008), antitrombótica (Gustafsson e Elg, 2003), dentre outras atividades (Freitas Filho *et al.*, 2015; Fylaktakidou *et al.*, 2008), conforme apresentadas na Figura 2,. Além dessas aplicações, as amidoximas têm sido empregadas como bioprecursores de amidinas (Ovdiichuk e Hordiyenko, 2016).

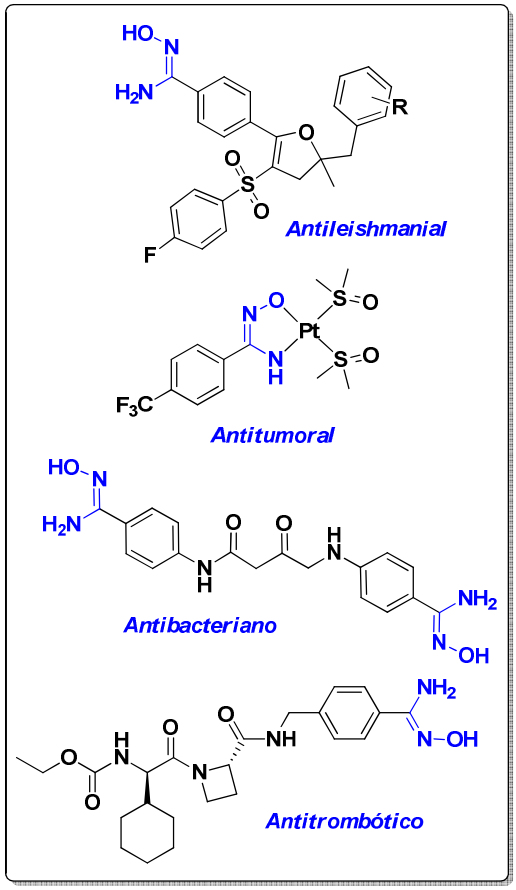


Figura 2. *Atividades biológicas de compostos contendo uma porção amidoxímica.*

Estes bioprecursores, também denominados de pró-fármacos, são medicamentos administrados em sua forma inativa e sua estrutura molecular permite superar as barreiras farmacológicas, farmacocinéticas e farmacodinâmicas, contornando algumas dificuldades como, a baixa solubilidade, absorção oral insuficiente, permeabilidade inadequada da

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

barreira hematoencefálica ou metabolismo pré-sistêmico, caso o fármaco fosse administrado em sua forma ativa (Kotthaus *et al.*, 2011).

Cabe destacar que um número crescente de fármacos e candidatos a novos medicamentos contém em sua estrutura grupos funcionais básicos, a citar as amidinas e guanidinas (Figura 3), contudo, a presença dessas funções químicas na estrutura de um fármaco acarreta em uma diminuição da sua biodisponibilidade oral, impedindo uma adsorção gastrointestinal eficiente, pois, esses grupos são facilmente protonados sob pH fisiológico (Neve *et al.*, 2012). A fim de contornar isto, uma alternativa é a utilização das amidoximas como pró-fármacos das amidimas.

As vantagens do uso das amidoximas como pró-fármacos das amidinas são várias como, por exemplo, sua menor basicidade dificulta sua protonação nas condições fisiológicas; e são mais facilmente absorvidas pelo trato gastrointestinal, o que melhora sua biodisponibilidade após administração (Clement, 2002).

Além disso, a enzima denominada de mARC (*mitochondrial Amidoxime Reducing Component* – Componente Redutor de Amidoxima Mitocondrial) pode biotransformar as amidoximas nas amidinas (Llamas *et al.*, 2017). A enzima mARC associada às proteínas transportadoras de elétrons do citocromo b5 e citocromo b5 redutase, formam um sistema enzimático de três componentes que catalisa a redução de pró-fármacos *N*-hidroxilados (Krompholz *et al.*, 2012). O mecanismo de ação da enzima mARC está sumarizado na Figura 4.

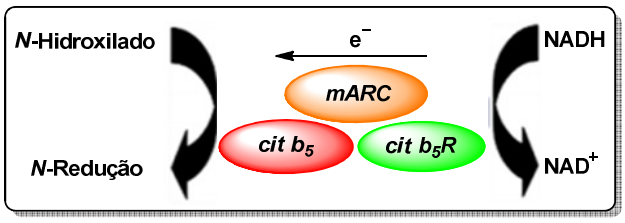
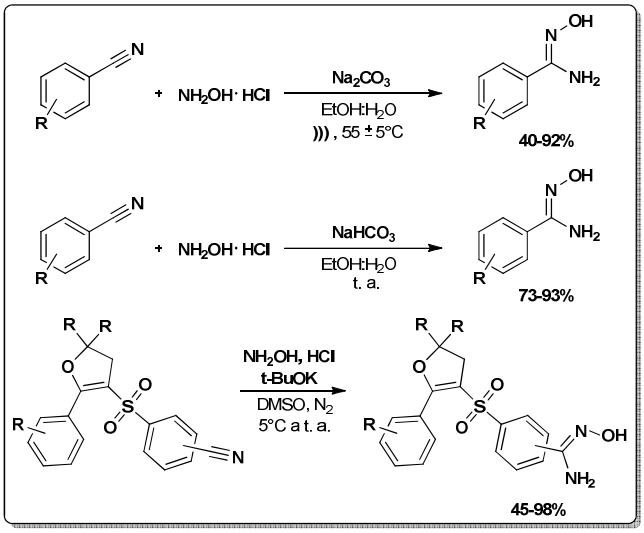


Figura 4. *Mecanismo de ação da mARC.*
Fonte: Adaptado de Krompholz *et al.*, 2012.

Diante dessas observações, muitas moléculas biologicamente ativas contendo o grupo amidina em sua estrutura têm sido obtidas na forma das correspondentes amidoximas, a citar a pentamidina, uma droga com atividade antiprotozoária, na qual a substituição de ambos os grupos amidínicos por grupos amidoxímicos resultou no aumento da biodisponibilidade e solubilidade (Clement e Raether, 1985; Clement *et al.*, 1992).

Após os estudos de Clement e colaboradores (1985 e 1992), essa estratégia vem sendo aplicada em muitos compostos, cujos pró-fármacos amidoxímicos transformam-se em suas formas ativas após administração (Gustafsson e Elg, 2003; Clement *et al.*, 2013; Froriep *et al.*, 2013; Schade *et al.*, 2014) (Figura 5).

Cabe destacar que as amidoximas apresentam a vantagem de serem sinteticamente mais estáveis quando comparadas as amidinas, tornando-as bioprecursores ainda mais relevantes (Ovdiichuk e Hordiyenko, 2016). A literatura dispõe de várias metodologias para a preparação de amidoximas e uma excelente revisão foi descrita por Freitas Filho e colaboradores (2015), no entanto, as principais rotas sintéticas utilizadas para obtenção desses compostos são através da reação entre a nitrila e a hidroxilamina ou cloridrato de hidroxilamina utilizando diferentes condições reacionais como, por exemplo, a irradiação de ultrassom (Barros *et al.*, 2011), ou sistema água-etanólico em temperatura ambiente (Srivastava *et al.*, 2009) ou utilizando terc-butóxido de potássio e DMSO com temperatura inicial de 5 °C e em seguida a temperatura ambiente (Bouhlel *et al.*, 2010), respectivamente mostrados no Esquema 1.



Esquema 1. *Rotas sintéticas utilizadas para preparação de amidoximas.*

Apesar do grande potencial tecnológico, farmacológico e biológico das amidoximas (Freitas Filho *et al.*, 2015; Fylaktakidou *et al.*, 2008), o bioensaio toxicológico de arilamidoximas estruturalmente simples frente à *Artemia salina* permanece inexplorado, embora

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

este tipo de teste seja utilizado para nortear o planejamento de um novo fármaco com perfil toxicológico desejado.

O bioensaio envolvendo *Artemia salina* é considerado um método simples, de fácil manuseio e cultivo, reprodutível e de baixo custo (Luna *et al.*, 2005), pois, não é necessário a utilização de equipamentos especiais nem o uso de camundongos e acomoda facilmente um alto número de náuplios (larvas), amparando a validação estatística garantindo a confiabilidade do método. Além disso, atende as principais necessidades rotineiras de triagens de toxicidade (Bednarczuk, *et al.*, 2010; Rajabi *et al.*, 2015), o que é evidenciado pelo número de artigos e citações referentes ao tema (Figura 6).

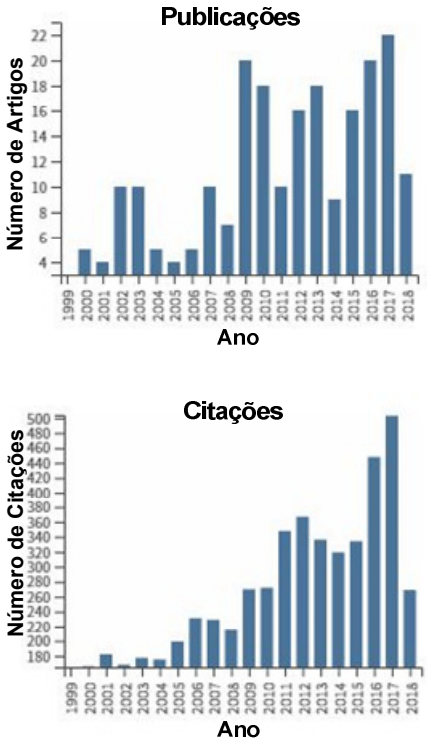


Figura 6. *Pesquisa no banco de dados da plataforma Web of Science™ utilizando o termo "Artemia salina".*

As artêmias são amplamente utilizadas como indicadores de toxicidade de substâncias e extratos brutos de plantas, utilizando a Concentração Letal para matar 50% (CL_{50}) como parâmetro para avaliar a atividade biológica da citotoxicidade. Os resultados dos testes de sensibilidade desses crustáceos são considerados confiáveis e assemelham-se aos testes em humanos (Diniz *et al.*, 2012; Meyer *et al.*, 1982; Araujo e Cunha, 2010).

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi realizar a síntese de diferentes arilamidoximas e realizar o bioensaio toxicológico frente à *Artemia salina* Leach, uma vez que não há relatos sobre esse estudo na literatura.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Materiais, Reagentes e Equipamentos

Em geral, foram utilizados reagentes e solventes na sua forma comercial (P.A.), dos fornecedores Sigma-Aldrich, Vetec e Cinética. Os solventes utilizados foram purificados conforme o protocolo de Perrin e Armarego (1996). O acompanhamento das reações foi realizado através de cromatografia em camada delgada (CCD). Os espectros de ressonância magnética nuclear foram registrados em um espectrômetro *Varian Unity Plus* de 300 MHz. Os deslocamentos químicos foram expressos em ppm (partes por milhão) em relação ao pico residual do DMSO-d_6 (2,5 ppm) para os espectros de hidrogênio, em relação ao pico central do DMSO-d_6 (39,7 ppm) para os espectros de carbono. Todas as constantes de acoplamento (*J*) foram descritas em hertz (Hz). Os pontos de fusão foram realizados no Electro-thermal série IA 9100 Digital Melting Point. Os espectros no infravermelho foram registrados em um em espectrofotômetro de IV com transformada de Fourier no instrumento Bruker Modelo IFS66, sendo as amostras preparadas como filmes finos ou pastilhas de KBr.

2.1.1 Procedimentos Experimentais

2.1.1.1 Procedimento Geral para Síntese das Arilamidoximas

A preparação das arilamidoximas foi baseada na metodologia descrita por Barros e colaboradores (2011) com algumas modificações visando a otimização do rendimento. Deste modo, em um balão de fundo redondo com capacidade de 50 mL foram dissolvidos o cloridrato de hidroxilamina (208,47 mg; 3 mmol) e carbonato de sódio (158,98 mg; 1,5 mmol) em 10 mL de água destilada à temperatura ambiente, em seguida foi adicionado 1,0 mmol da nitrila desejada em 10 mL de etanol. A mistura reacional foi colocada em um banho ultrassônico sob temperatura de 55 ± 5 °C. O término da reação foi comprovado por CCD, utilizando como sistema de eluição hexano:acetato de etila (7:3),

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

até observar-se o consumo total da nitrila. Finalizada a reação, o etanol foi evaporado, formando duas fases, a fase aquosa e o produto insolúvel em água. Os produtos obtidos em forma de óleo foram extraídos do meio aquoso com acetato de etila (3 x 15mL). A fase orgânica foi separada e secada com Na_2SO_4. Em seguida a fase orgânica foi filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida, sendo o produto obtida e purificada por cristalização em clorofórmio:hexano (4:6), fornecendo as arilamidoximas.

Benzamidoxima (2a): Obtido como um sólido branco (99,4 mg, 73%); P.F. 79-80 ºC; RMN ^{1}H (DMSO-d_6, 400 MHz, δ ppm): δ 9,63 (s, 1H, OH); 7,70-7,66 (m, 2H, $H_{aromático}$); 7,39-7,35 (m, 3H, $H_{aromático}$); 5,81 (s, 2H, NH_2). RMN ^{13}C (DMSO-d_6, 400 MHz, δ ppm): δ 150,8;133,3; 128,9; 128,1; 125,0. IV (Pastilha de KBr): ν 3453, 361, 3057, 2369, 2293, 1649, 1529, 1387, 927, 691 cm^{-1}.

2-Metilbenzamidoxima (2b): Obtido como um sólido branco (82,6 mg, 55%); P.F. 145-147 ºC; RMN ^{1}H (DMSO-d_6, 400 MHz, δ ppm): δ 9,30 (s, 1H, OH); 7,28-7,25 (m, 2H, $H_{aromático}$); 7,22-7,16 (m, 2H, $H_{aromático}$); 5,70 (s, 2H, NH_2); 2,34 (s, 3H, CH_3). RMN ^{13}C (DMSO-d_6, 400 MHz, δ ppm): δ 152,3; 136,2; 134,3; 130,1; 128,8; 128,4; 125,3; 19,7. IV (Pastilha de KBr): ν 3479, 3362, 2918, 2356, 1655, 1588, 1377, 905, 771 cm^{-1}.

3-Metilbenzamidoxima (2c): Obtido como um sólido branco (106,6 mg, 71%); P.F. 91-92 ºC; RMN ^{1}H (DMSO-d_6, 400 MHz, δ ppm): δ 9,57 (s, 1H, OH); 7,50 (sl, 1H, $H_{aromático}$); 7,47 (d, 1H, J = 8,2 Hz, $H_{aromático}$); 7,25 (dd, 1H, J = 7,8 e 7,4 Hz, $H_{aromático}$); 7,18 (d, 1H, J = 7.8 Hz, $H_{aromático}$); 5,75 (s, 2H, NH_2); 2,32 (s, 3H, CH_3). RMN ^{13}C (DMSO-d_6, 400 MHz, δ ppm): δ 151,0; 137,1; 133,3; 129,5; 128,0; 126,0; 122,6; 21,1. IV (Pastilha de KBr): ν 3452, 3349, 3042, 2370, 2278, 1648, 1588, 1386, 933, 894, 707 cm^{-1}.

4-Metilbenzamidoxima (2d): Obtido como um sólido branco (123,1 mg, 82%); P.F. 145-146 ºC; RMN ^{1}H (DMSO-d_6, 400 MHz, δ ppm): δ 9,52 (s, 1H, OH); 7,56 (d, 2H, J = 8,2 Hz, $H_{aromático}$); 7,16 (d, 2H, J = 8,2 Hz, $H_{aromático}$); 5,73 (s, 2H, NH_2); 2,31 (s, 3H, CH_3). RMN ^{13}C (DMSO-d_6, 400 MHz, δ ppm): δ 150,8; 138,2; 130,5; 128,6; 125,3; 20,8. IV (Pastilha de KBr): ν 3499, 3370, 3054, 1918, 1667, 1588, 1391, 937, 825, 751 cm^{-1}.

4-Bromobenzamidoxima (2e): Obtido como um sólido branco (172,0 mg, 80%); P.F. 136-137 ºC; RMN ^{1}H (DMSO-d_6, 400 MHz, δ ppm): δ 9,74 (s, 1H, OH); 7,63 (d, 2H, J = 8,6 Hz, $H_{aromático}$); 7,57 (d, 2H, J = 8,6 Hz, $H_{aromático}$); 5,86 (s, 2H, NH_2). RMN ^{13}C (DMSO-d_6, 400 MHz, δ ppm): δ 150,0; 132,5; 131,0; 127,4; 122,1. IV (Pastilha de KBr): ν 3474, 3356, 3150, 2361, 1657, 1587, 1388, 919, 835,740 cm^{-1}.

4-Clorobenzamidoxima (2f): Obtido como um sólido branco (135.5 mg, 80%); P.F. 133-135 ºC; RMN ^{1}H (DMSO-d_6, 400 MHz, δ ppm): δ 9,73 (s, 1H, OH); 7,69 (d, 2H, J = 8,4 Hz, $H_{aromático}$); 7,43 (d, 2H, J = 8,4 Hz, $H_{aromático}$); 5,86 (s, 2H, NH_2). RMN ^{13}C (DMSO-d_6, 400 MHz, δ ppm): δ 147,7; 131,2; 129,9; 125,9; 124,9. IV (Pastilha de KBr): ν 3478, 3372, 3153, 1659, 1492, 1414, 1097, 1016, 965, 802, 736 cm^{-1}.

4-Nitrobenzamidoxima (2g): Obtido como um sólido amarelado (164,8 mg, 91%); P.F. 168-170 ºC; RMN ^{1}H (DMSO-d_6, 400 MHz, δ ppm): δ 10,16 (s, 1H, OH); 8,25 (d, 2H, J = 9,0 Hz, $H_{aromático}$); 7,97 (d, 2H, J = 9,0 Hz, $H_{aromático}$); 6,08 (s, 2H, NH_2). RMN ^{13}C (DMSO-d_6, 400 MHz, δ ppm): δ 149,4; 147,5; 139,5; 126,4; 123,4. IV (Pastilha de KBr): ν 3463, 3358, 3111, 1662, 1602, 1517, 1341, 927, 864, 704 cm^{-1}.

2.1.1.2 Bioensaio Toxicológico

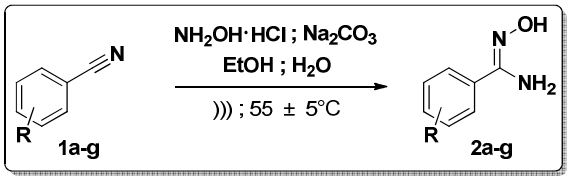
O ensaio de toxicidade contra *Artemia salina* Leach teve como base o método proposto por Meyer e colaboradores (1982). Os ovos de *A. salina* (20 mg) foram incubados em uma salina artificial (a água salina foi preparada a partir de 38 g de sal marinho Marinex® em 1,0 L de água destilada à temperatura ambiente, entre 22-29 ºC), por um período de 48 horas em um aquário adaptado. Um dos compartimentos do aquário permaneceu escuro e o outro claro, utilizando-se uma fonte de luz em que os náuplios foram atraídos. Em seguida foram adicionadas em tubos de ensaio, 10 larvas recém-eclodidas contendo 5 mL de cada uma das soluções testadas e do controle. Esses tubos foram divididos em nove grupos, no qual o primeiro e segundo grupo receberam a solução controle positivo (dicromato de potássio e solução salina) e controle negativo (100 µL de DMSO e 4,9 mL de solução salina), respectivamente. Os grupos restantes receberam a solução da amidoxima em

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

diferentes concentrações. Essas concentrações foram preparadas da seguinte maneira: em um tubo de ensaio a amidoxima (10 mg) foi solubilizada em DMSO (50 µL) e o volume do tubo foi completado para 5 mL com água salinizada a pH 8,0. Desta solução foram retiradas alíquotas de 375, 250, 187,5, 125, 87,5 62,5 e 25 µL, sendo cada uma delas transferidas para balões volumétricos de 5 mL e os volumes completados com água destilada, obtendo-se concentrações de 150, 100, 75, 50, 35, 25 e 10 µL/mL da amidoxima apropriada. As amostras foram submetidas à iluminação artificial por 24 horas e após esse tempo realizou-se a contabilidade, onde na contagem do número de larvas foram consideradas mortas aquelas que permaneceram imóveis por mais de 10 segundos após agitação suave dos tubos (Lhullier *et al.*, 2006). Adicionalmente, o procedimento foi realizado em triplicata para cada substância-teste. Para obtenção dos valores da concentração letal para matar 50% das larvas (CL_{50}), foi utilizada a análise através do software POLO-PC (Copyright LeOra Software 1987).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O trabalho foi iniciado com a síntese das arilamidoximas (**2a-g**) por meio da reação das arilnitrilas (**1a-g**) com cloridrato de hidroxilamina na presença de carbonato de sódio, utilizando etanol e água como solventes conforme mostrado no Esquema 2.



Esquema 2. *Preparação das arilamidoximas* ***2a-g****.*

A Tabela 1 apresenta o tempo e o rendimento das arilamidoximas (**2a-g**) obtidas.

De acordo com a Tabela 1, as arilamidoximas (**2a-g**) foram obtidas em tempo reacionais que variaram de 15 a 45 minutos e com rendimentos entre 55 a 91%. Adicionalmente, os dados obtidos na caracterização estrutural das arilamidoximas (**2a-g**) estão de acordo com a literatura (Barros *et al.*, 2011, Andrade, Freitas Filho e Freitas, 2016).

Analisando o espectro de RMN de ^{1}H do composto **2a** (Figura 7) constatou-se que o somatória das integrais sobre cada sinal foi 8, número este igual a quantidade de hidrogênios presentes na estrutura do composto de interesse. O sinal em 9,63 ppm, do tipo simpleto, foi atribuído ao hidrogênio ácido (H-1) do grupo isonitroso (NOH). Os dois multipletos compreendidos nas regiões de 7,70 a 7,60 ppm e 7,40 a 7,30 ppm foram atribuídos aos hidrogênios aromáticos (H-3, H-4 e H-5), uma vez que esses hidrogênios sofrem o efeito de anisotropia diamagnética intensificado pela ressonância do anel (Pavia *et al.*, 2015). O sinal em 5,81 ppm, do tipo simpleto, foi atribuído ao hidrogênio H-2 do grupo NH_2.

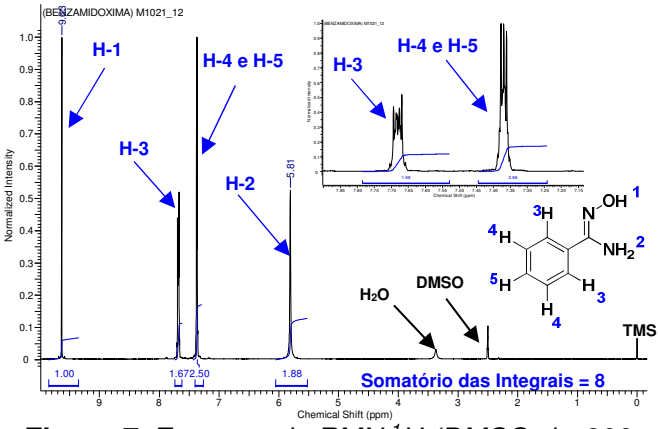


Figura 7. *Espectro de RMN ^{1}H (DMSO-d_6, 300 MHz) do composto* ***2a****.*

Analisando o espectro de RMN ^{13}C do composto **2a** (Figura 8) constatou-se a presença de cinco sinais, indicando a presença de cinco carbonos quimicamente diferentes. O sinal em 150,8 ppm foi atribuído ao carbono C-1, devido o mesmo sofrer o efeito de anisotropia diamagnética e está diretamente ligado a dois heteroátomos (Pavia *et al.*, 2015). O sinal em 133,3 ppm foi atribuído ao carbono C-2 devido o mesmo sofrer o efeito anisotrópico, está ligado a unidade amidoxímica e ser um "carbono quartenário" o que aumenta seu tempo de relaxação, levando a um sinal de baixa intensidade. Com relação aos sinais em 128,9; 128,1 e 125,0 foram atribuídos aos carbonos C-3, C-4 e C-5.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

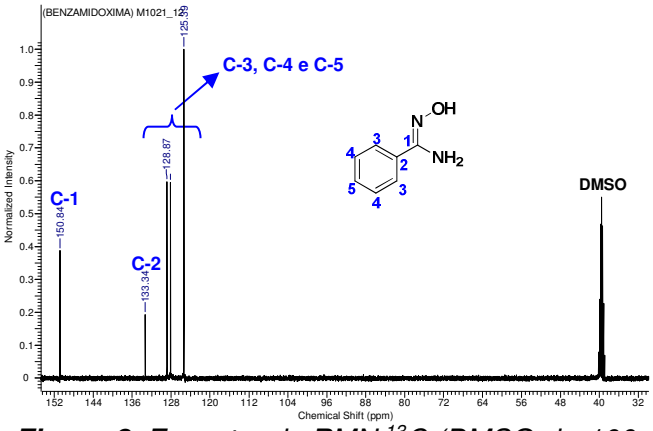


Figura 8. *Espectro de RMN ^{13}C (DMSO-d_6, 100 MHz) do composto* ***2a****.*

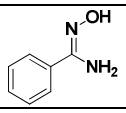
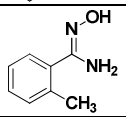
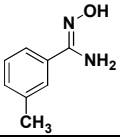
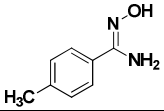
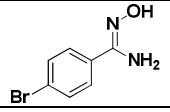
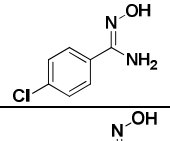
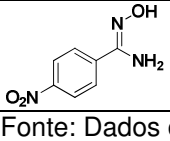
Uma vez obtidas as arilamidoximas (**2a-g**), partiu-se para o bioensaio toxicológico frente à *Artemia salina* Leach. A escolha por esse bioensaio foi motivada por se tratar de ensaio simples, rápido, reprodutivo e útil como teste preliminar durando o planejamento de moléculas biologicamente ativas. Adicionalmente, há na literatura diversos trabalhos que apresentam uma excelente correlação entre os ensaios de toxicidade frente à *A. Salina* com distintas atividades biológicas, tais como, antifúngicas antiviral, antimicrobiana, parasiticida, antitumoral, tripanossomicida, dentre outras (Rahman e Choudhary, 2001; Pisutthanan *et al.*, 2004). Os resultados do bioensaio toxicológico das diferentes arilamidoximas (**2a-g**) estão apresentados na Tabela 2.

De acordo com a Tabela 2, as arilamidoximas (**2a-g**) apresentaram toxicidade que variaram de moderada a alta, uma vez que os valores de CL_{50} tiveram uma variação entre 18,553 a 273,313 µg/mL (Merino *et al.*, 2015). Segundo Nguta e colaboradores (2011), quanto menor o valor da CL_{50} mais tóxico é o composto frente à *A. salina* e maior é a sua atividade citotóxica, assim o composto **2c** com CL_{50} de 18,553 demonstrou ser o mais citotóxico (Tabela 2, teste 3). Em contrapartida a menor toxicidade foi observada para o comporto **2b** com CL_{50} de 273,313 µg/mL (Tabela 2, teste 2). Comparando-se os valores de CL_{50} dos compostos **2b**, **2c** e **2d** verificou-se que o composto com o grupo metila ($-CH_3$) na posição *orto* foi o menos tóxico em relação aos compostos contendo este mesmo grupo nas posições *meta* e *para* (Tabela 2, testes 2, 3 e 4), fornecendo subsídios para conjectura sobre uma possível influência dos efeitos estéricos e eletrônicos do grupo metila na atividade biológica.

Cabe ressaltar que grupos elétron-retiradores favorecem a ionização de compostos em solução aquosa, o que dificulta a passagem dos mesmos através das membranas biológicas, um bom exemplo de grupo elétron-retirador é o nitro ($-NO_2$). Esta tendência foi constatada nos compostos avaliados, uma vez que o composto **2g**, o qual contém o grupo $-NO_2$ apresentou uma CL_{50} superior à dos compostos **2a**, **2c** e **2d** (Tabela 2, testes 1, 3, 4 e 7).

Constatou-se que não houve diferença entre a CL_{50} dos grupos -Cl e $-NO_2$, uma vez que apresentaram valores de 78,810 µg/mL e 79,795 µg/mL, respectivamente (Tabela 2, testes 6 e 7). Este resultado foi particularmente interessante, uma vez que o grupo $-NO_2$ atua como desativante forte, enquanto que o grupo -Cl atua como desativante fraco, logo se esperava uma variação mais significativa da CL_{50} devido essas características influenciarem na ionização da molécula em meio aquoso. Também constatou-se que a diferença de eletronegatividade dos grupos –Br e –Cl, presentes nos compostos **2e** e **2f**, acarretou em CL_{50} divergentes (Tabela 2, testes 5 e 6).

Tabela 2. *Concentração letal (CL_{50}) das arilamidoximas frente às larvas de Artemia salina Leach.*

Teste	Amidoxima		CL_{50} (µg/mL)
1		**2a**	40,724
2		**2b**	273,313
3		**2c**	18,553
4		**2d**	35,474
5		**2e**	38,549
6		**2f**	78,810
7		**2g**	79,795

Fonte: Dados da pesquisa.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Uma vez que o composto **2c** demostrou ser o mais tóxico frente à *A. salina*, decidiu-se investigar seu perfil físico-químico teórico, a citar, a sua lipofilicidade, realizando a determinação do seu coeficiente de partição (cLogP) utilizando o programa OSIRIS Property Explorer®. A escolha deste parâmetro foi devido o mesmo está diretamente relacionado com a biodisponibilidade oral de acordo com a Regra dos Cinco de Lipinski (Lipinski *et al*., 2001). O resultado desse cálculo demonstrou que o composto **2c** possui um cLogP igual a 1,71. De acordo com esse resultado, o composto **2c** apresentou lipofilicidade inferior a 5,0, que de acordo com Lipinski, é uma característica importante para uma boa absorção e permeação de um fármaco.

CONCLUSÕES

As arilamidoximas sintetizadas neste estudo foram caracterizadas via IV, RMN de ^{1}H e RMN de ^{13}C, onde os dados espectroscópios corroboraram com os dados descritos na literatura. Cabe ressaltar que as arilamidoximas sintetizadas (**2a-g**) apresentaram rendimentos que variando de bons a ótimos (55 a 91%). Dentre as arilamidoximas sintetizadas, o composto **2g** destacou-se por apresenta o melhor rendimento (91%) após 40 minutos de reação.

O bioensaio toxicológico realizado nesse trabalho com as diferentes arilamidoximas (**2a-g**) indicou que esses compostos apresentam uma atividade toxicológica acentuada, com destaque para o composto **2c**, o qual apresentou uma CL_{50} de 18,553 µg/mL, conforme relatado na literatura, compostos com valores de CL_{50} abaixo de 100 µg/mL são considerados tóxicos e quanto menor esse valor maior a citotoxicidade (Nguta *et al*., 2011). Adicionalmente, o cálculo teórico de lipofilicidade para o composto **2c**, foi inferior a 5,0, indicando que o mesmo apresenta uma boa absorção, permeação e biodisponibilidade.

No mais, os resultados obtidos sinalizam para as potencialidades das amidoximas e estimula futuros estudos visando à síntese e modificação estrutural desses compostos para potencialização das suas atividades biológicas buscando a descoberta de novos candidatos a fármacos.

REFERÊNCIAS

1. Andrade, D., Freitas Filho, J. R., Freitas, J. C. R. Química Nova, **2016**, *39*, 1235.
2. Araújo, M.G.F., Cunha, W.R.; Veneziani, R.C.S. Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl., **2010**, *31*, 205.
3. Barros, C.J.P., Freitas, J.J.R., Oliveira, R.N., Freitas Filho, J.R. J. Chil. Chem. Soc., **2011**, *56*, 721.
4. Bolotin, D.S., Demakova, M.Y., Legin, A.A., Suslonov, V.V., Nazarov, A.A., Jakupec, M.A., Kepplerb, B.K., Kukushkina, V.Y. New J. Chem., **2017**, *41*, 6840.
5. Bolotina, D.S., Bokacha, N.A. Coord. Chem. Rev. **2016**, *313*, 62.
6. Bouhel, A., Curti, C., Dumètre, A., Laget, M., Crozet, M. D., Azas, N., Vanelle, P. Bioorganic & Medicinal Chemistry, **2010**, *18*, 7310.
7. Cai, J., Wei, H.T., Hong, K.H., Wu, X.Q., Cao, M., Zong, X., Li, L.S., Sun, C.L., Chen, J.Q., Ji, M. *Eur.* J. Med. Chem. **2015**, *96*, 1.
8. Clement B., Immel M., Terlinden R., Wingen F.J. Arch. Pharm., **1992**, *325*, 61.
9. Clement B., Raether W. Arzneim. Forsch. A., **1985**, *35*, 1009.
10. Clement, B. Drug Metab. Rev. **2002**, *34*, 565.
11. Clement, B., Kotthaus, J., Kotthaus, J., Schade, D. Dabigatran-amidoxime acid esters as prodrugs and use thereof as pharmaceuticals. Eur. Pat. 2550966 A1 20130130. 2013.
12. Diniz, J.F., Dantas, I.C., Felismino, D.C., Chaves, T.P.; Sobrinho, L.C. Rev. Biol. Farm., **2012**, *07*, 18.
13. Freitas Filho, J.R., da Silva, R.L., da Silva E.E., Santos, J.A.M., de Freitas, J.J.R., Freitas, J.C.R. Rev. Virtual Quim., **2015**, *7*, 2549.
14. Froriep, D., Clement, B., Bittner, F., Mendel, R.R., Reichmann, D., Schmalix, W., Havemeyer, A. Xenobiotica, **2013**, *43*, 780.
15. Fylaktakidou, K.C., Hadjipavlou-Litina, D.J., Litinas, K.E., Varella, E.A., Nicolaides, D.N. Curr. Pharm. Des. **2008**, *14*, 1001.
16. Gustafsson D., Elg, M. Thromb. Res., **2003**, *109*, 9.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

17. International Union of Pure and Applied Chemistry, Compendium of Chemical Terminology. Gold Book, **2014**.
18. Kotthaus, J., Hungeling, H., Reeh, C., Kotthaus, J., Schade, D., Wein, S., Wolffram, S., Clement, B. Bioorg. Med. Chem. **2011**, *19*, 1907.
19. Krompholz, N., Krischkowski, C., Reichmann, D., Garbe-Schönberg, D., Mendel, R., Bittner, F., Clement, B., Havemeyer, A. Chemical Research in Toxicology. **2012**, *25*, 2443.
20. Kumar, V., Mohan, C., Gupta, M., Mahajan, M.P. Tetrahedron. **2005**, *61*, 3533.
21. Lhullier C., Horta P.A., Falkenberg, M. Ver. Bras. Farmacogn., **2006**, *16*, 158.
22. Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., Feeney, P.J. Adv. Drug Deliv. Ver. **2001**, *46*, 3.
23. Llamas, A., Chamizo-Ampudia, A., Tejada-Jimenez, M., Galvan, A., Fernandez, E. Biofactors. **2017**, *43*, 486.
24. Mahurin, S.M., Gorka, J., Nelson, K.M., Mayes, R.T., Dai, S. Carbon. **2014**, *67*, 457.
25. Merino, F., Oliveira, V., Paula, C., Cansian, F., Souza, A., Zuchetto, M., Hirota, B., Duarte A., Kulik, J., Miguel, M., Miguel, O. Rev. Bras. Plant. Medici., **2015**, *17*, 1031.
26. Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnan, J.E., Jacobsen, I.B., Nichols, D.E., McLaughlin, J.L. J. Med. Chem. Plant. Res., **1982**, *45*, 31.
27. Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnan, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E., McLaughlin, J. J. Med. Chem. Plant. Res., **1982**, *45*, 31.
28. Neve, E.P.A., Nordling, A., Andersson, T.B., Hellman, U. Diczfalusy, U., Johansson, I., Sundberg, M.I. J. Bio. Chem. **2012**, *287*, 6307.
29. Nguta, J.M., Mbaria, J.M., Gakuya, D.W., Gathumbi, P.K. Kabasa, J.D. Kiama, S.G. Pharmacologyonline, **2011**, *2*, 458.
30. Овдійчук, О.В., Гордієнко, О.В. J. Org. Pharm. Chem. **2016**,*14*, 53.
31. Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., Vyvyan, J. R. Introdução à Espectroscopia. Tradução da 5º ed norte-americana, Cengage Learning: São Paulo, 2015, cap. 5 e 7.
32. Perrin, D.D., Amarego, W.L.F. Purification of Laboratory Chemicals, 3ª ed., Pergamon Press: Oxford, 1996.
33. *Web of Science™,* agosto de 2018.
34. Pisutthanan, S., Plianbangchang, P., Pisutthanan, N., Ruanruay, S., Muanrit, O. Nares. Univ. J., 2004, *12*, 13.
35. Rahman, A., Choudhary, M.I., Thomsen, W.J. Bioassay techniques for drug development. CRC Press; 1ª Ed. Harwood academic publishers, 2001.
36. Rajabi, S., Ramazani, A., Hamidi M., Naji T. J. Pharm. Sci., **2015**, *23*, 20.
37. Schade, D., Kotthaus, J., Riebling, L., Kotthaus, J., Mueller-Fielitz, H., Raasch, W., Koch, O., Seidel, N., Schmidtke, M., Clement B. J. Med. Chem., **2014**, *57*, 759.
38. Srivastava, R. M., Pereira, M. C., Faustino, W. W., Coutinho, K., Anjos, J. V., Melo, S. Monatshefte Für Chemie, **2009**, *140*, 1319.
39. Tabélé, C., Faiões, V.S., Grimaud, F., Santos, E.C.T., Khoumeri, O., Curti, C., Vanelle, P. Eur. J. Med. Chem. **2018**, *148*, 154.
40. Tang, D., Li, X.L., Guo, X., Wu, P., Li, J.H., Wang, K., Jing, H.W. Tetrahedron. **2014**, *70*, 4038.
41. Wu, Z.C., Huang, Y., Lu, Y.N., Tao, T.X., Zhang, Z. Cat. Comm., **2012**, *29*, 158.
42. Xu, H., Ma, S., Xu, Y., Bian, L., Ding, T., Fang, X., Zhang, W., Ren, Y. J. Org. Chem. **2015**, *80*, 1789.
43. Zhang, L., Wang, X., Zhao, Y., Zhu, Z., Fong, H. Mater. Lett. **2012**, *68*, 133.
44. Zhao, Y.; Li, J.; Zhao, L.; Zhang, S.; Huang, Y.; Wu, X.; Wang, X. Chem. Eng. J. **2014**, 235, 275.
45. Zhu, J., Chen, Z., Xie, H., Li, S., Wu, Y. J. Flu. Chem., **2012**, *133*, 134.
46. Zienkiewicz, J., Fryszkowska, A., Zienkiewicz, K., Guo, F., Kaszynski, P., Januszko, A., Jones, D. The J. Org. Chem. **2007**, *72*, 3510.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

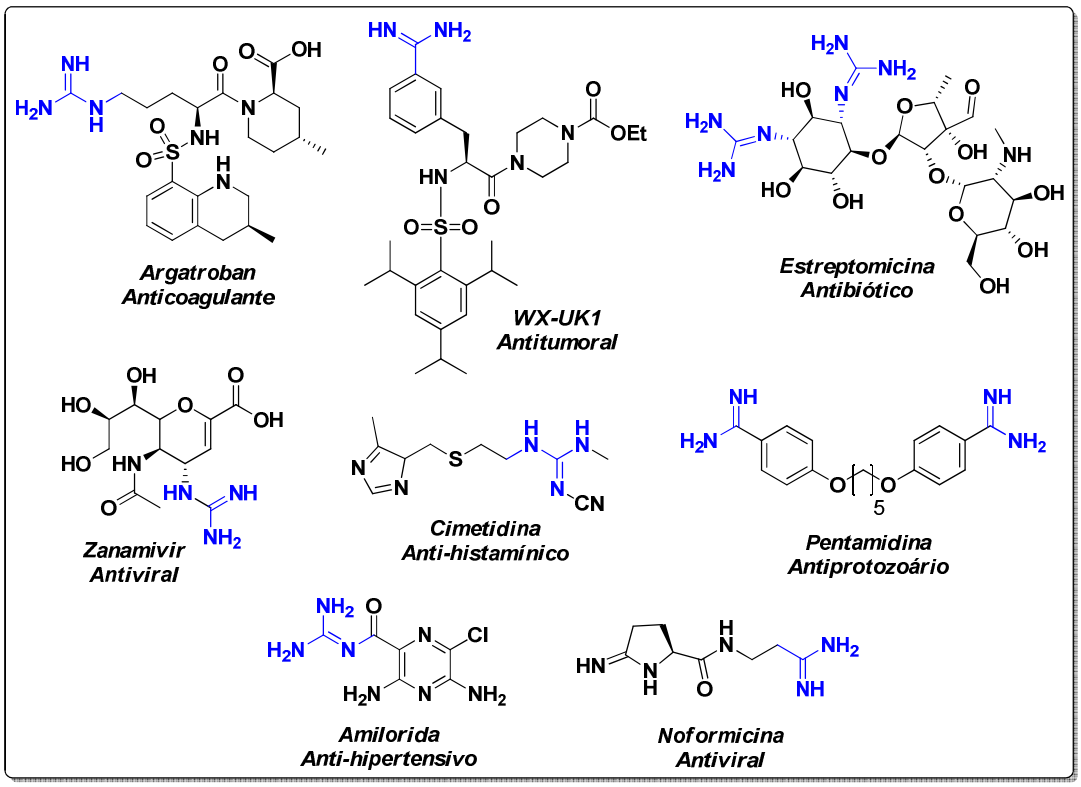


Figura 3. *Drogas e candidatos a novos medicamentos contendo grupos funcionais amidinas e guanidinas em suas estruturas.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

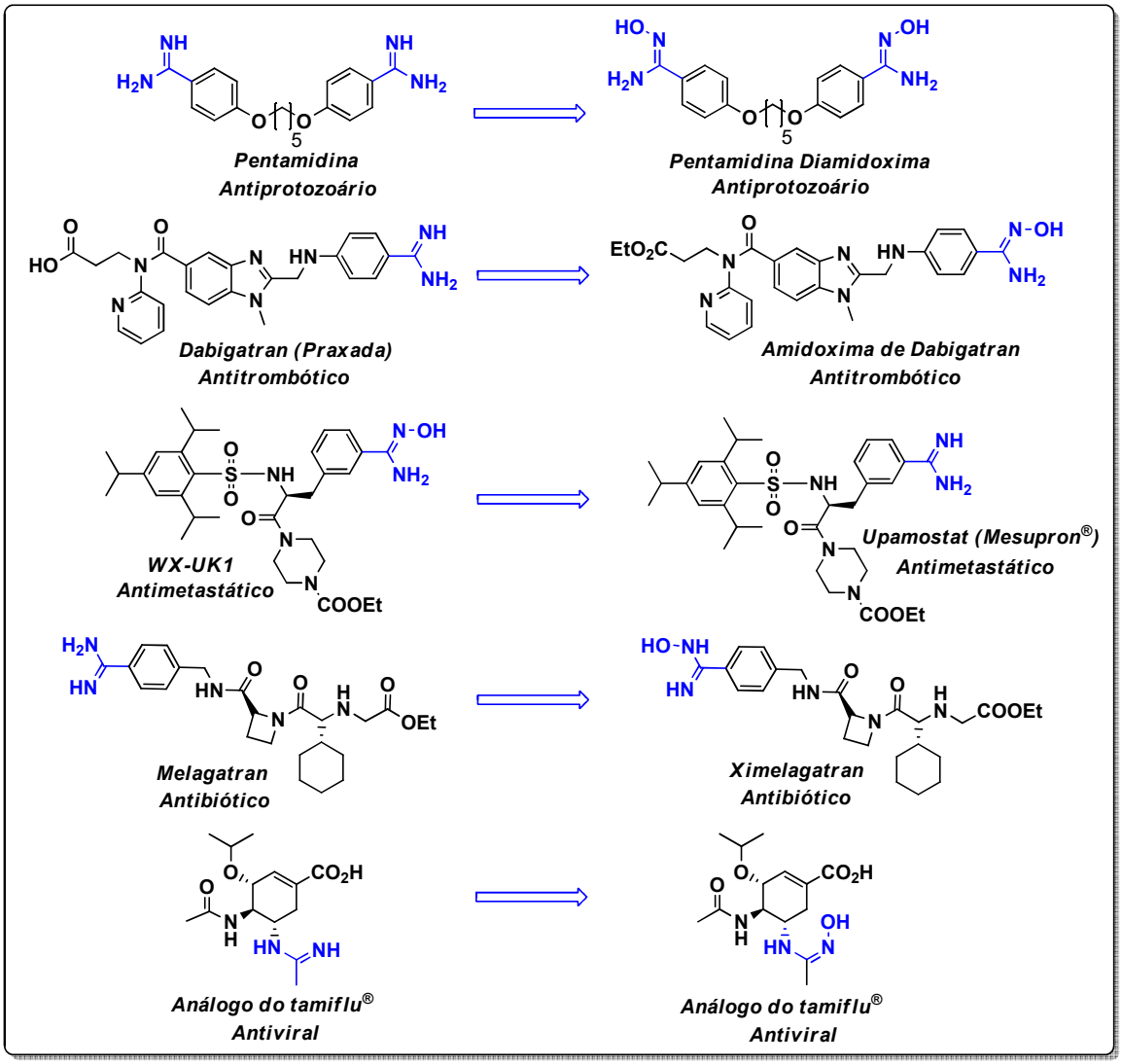
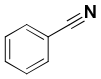
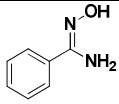
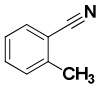
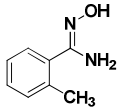
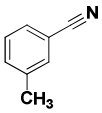
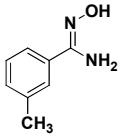
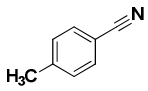
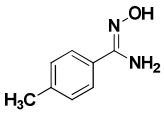
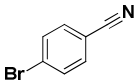
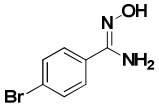
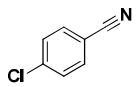
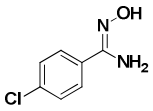
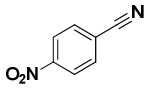
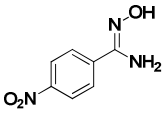


Figura 5. *Exemplos de substituição de grupos amidínicos por grupos amidoxímicos.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 1. *Dados reacionais das arilamidoximas (**2a-g**).*

Nitrila	Amidoxima	Tempo (min)	Rendimento (%)
 **1a**	 **2a**	15	73
 **1b**	 **2b**	45	55
 **1c**	 **2c**	30	71
 **1d**	 **2d**	20	82
 **1e**	 **2e**	45	80
 **1f**	 **2f**	45	80
 **1g**	 **2g**	40	91

Fonte: Dados da pesquisa.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

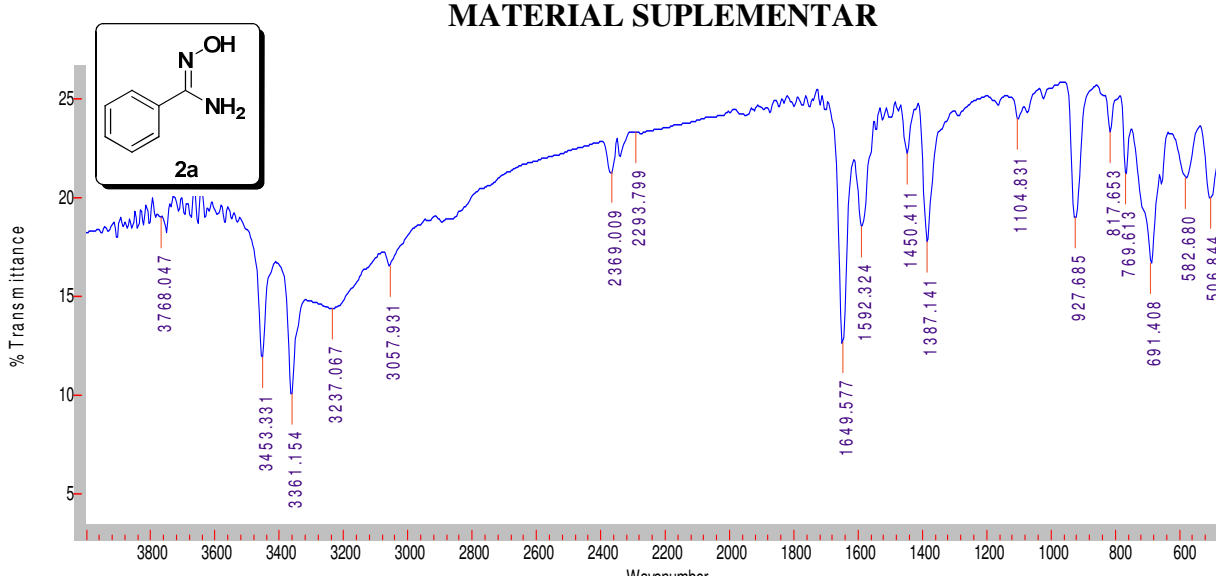


***Figura MS1**. Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) da Benzamidoxima (**2a**).*

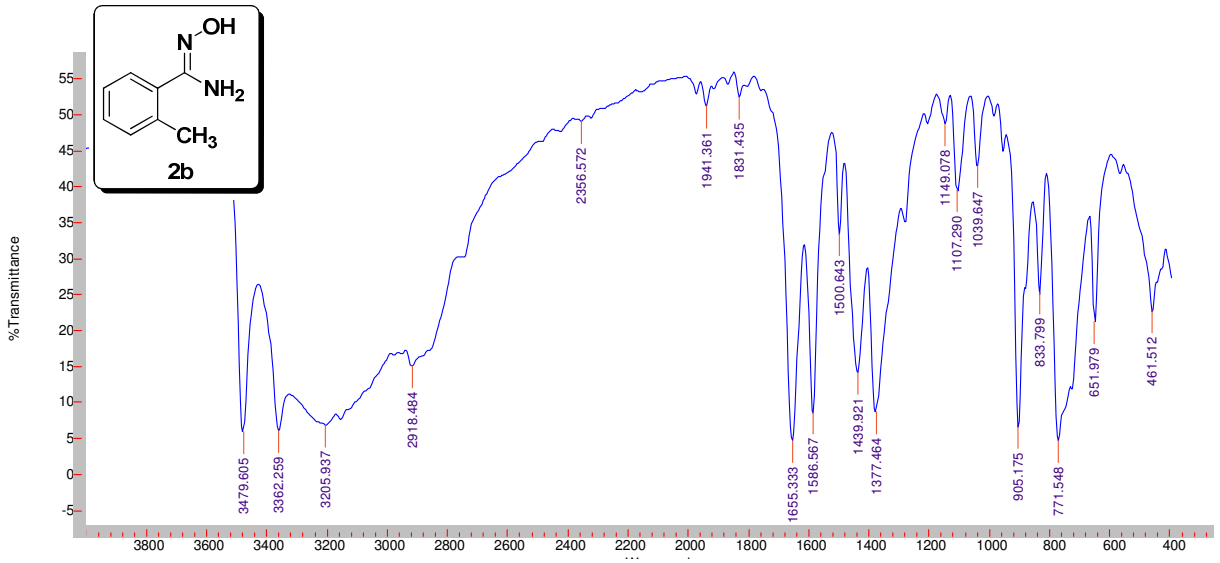
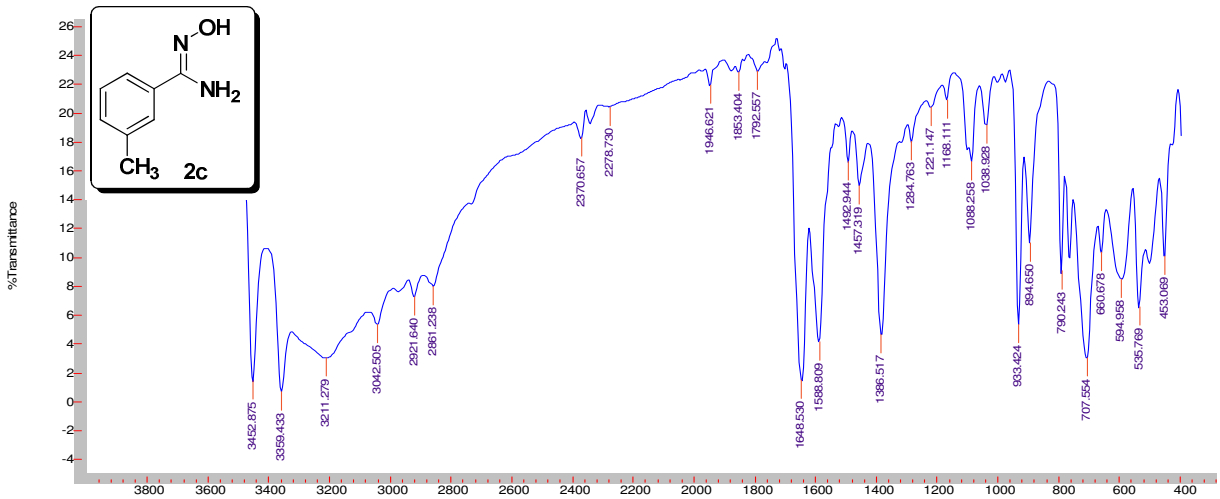


***Figura MS2**. Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) da 2-Metilbenzamidoxima (**2b**).*



© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

***Figura MS3**. Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) do 3-Metilbenzamidoxima (**2c**).*

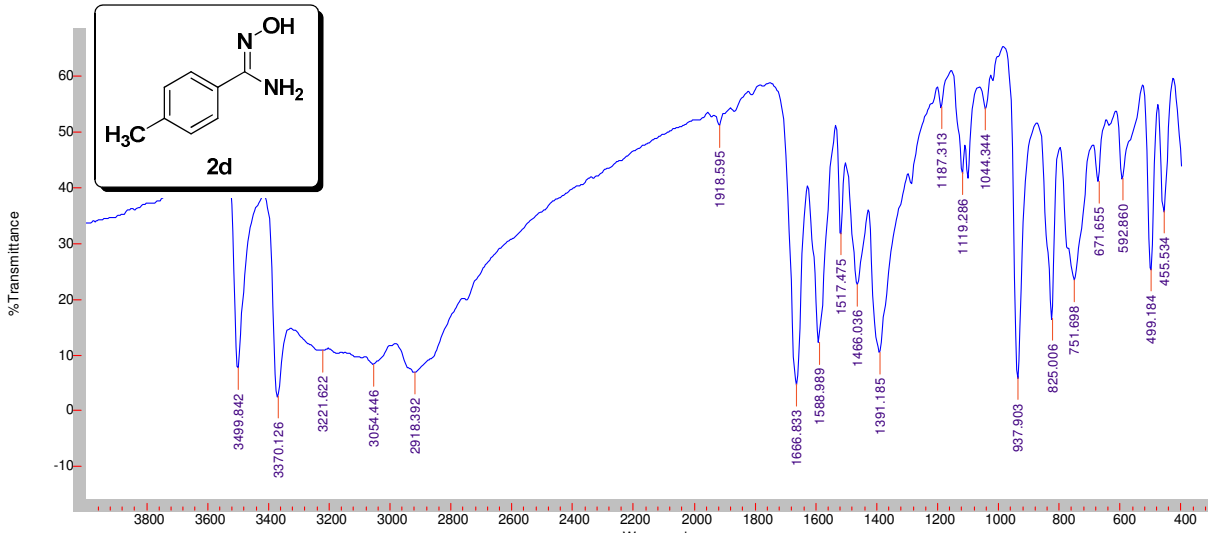


***Figura MS4**. Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) do 4-Metilbenzamidoxima (**2d**).*

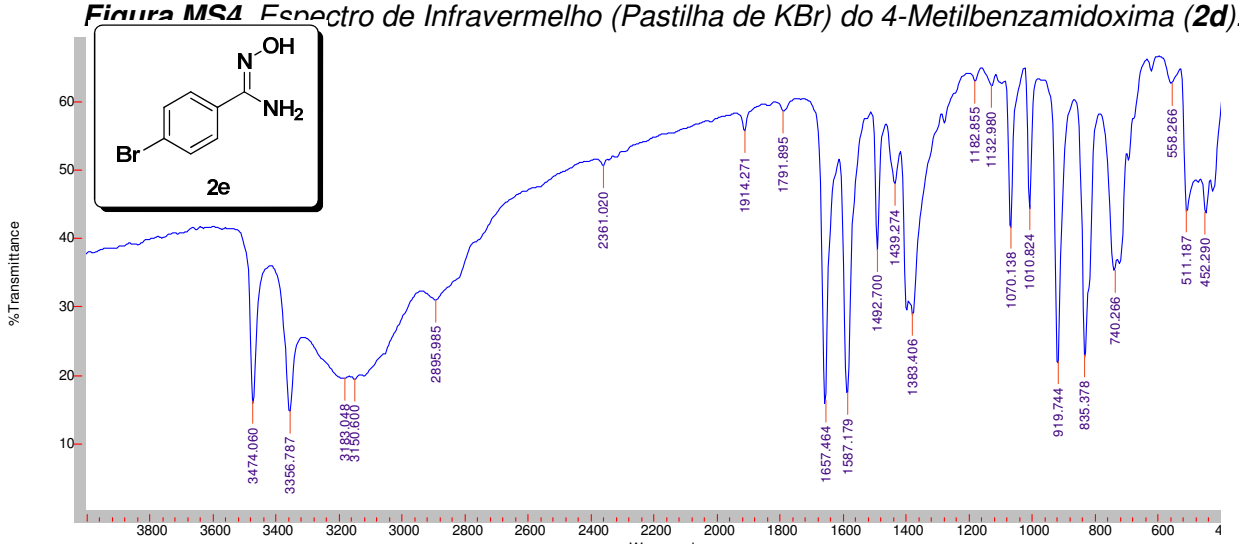
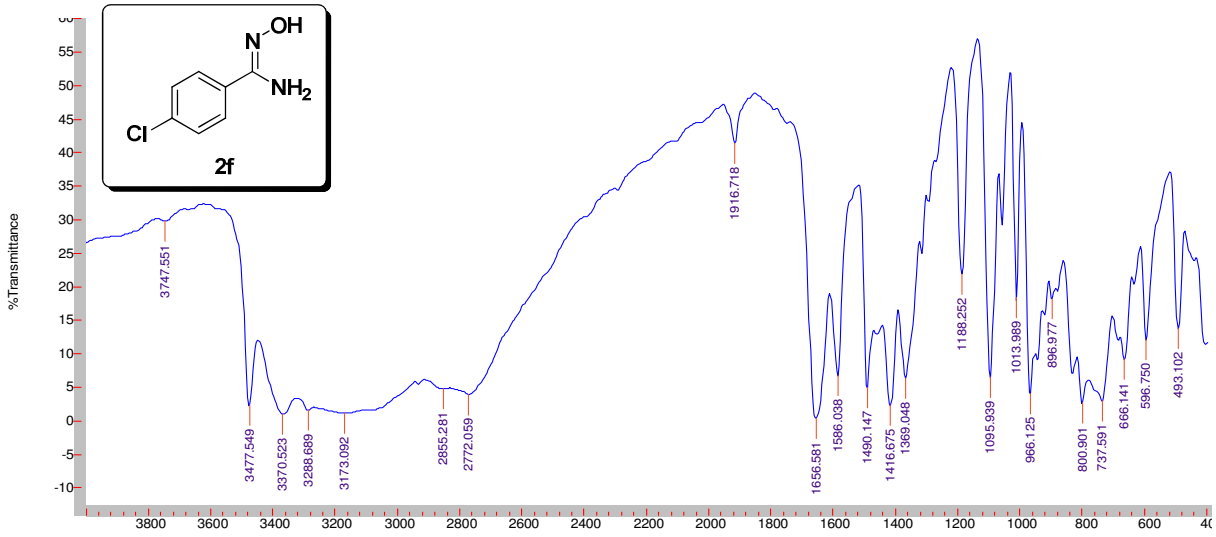


***Figura MS5**. Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) da 4-Bromobenzamidoxima (**2e**).*



© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

***Figura MS6**. Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) da 4-Clorobenzamidoxima (**2f**).*

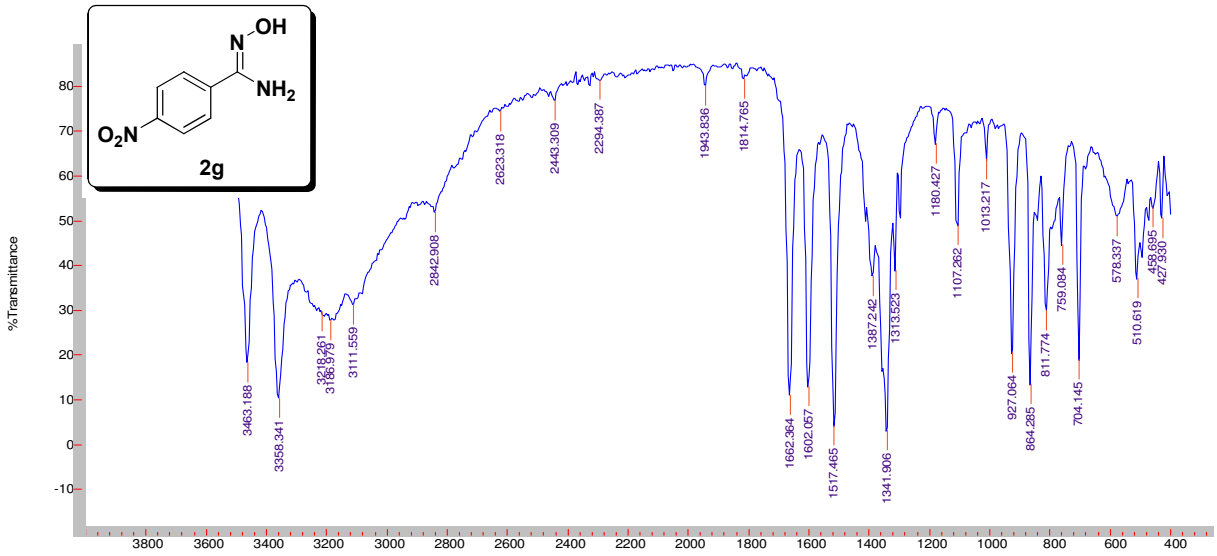


***Figura MS7**. Espectro de Infravermelho (Pastilha de KBr) da 4-Nitrobenzamidoxima (**2g**).*

Espectros de RMN ^{1}H e RMN ^{13}C dos Compostos Sintetizados

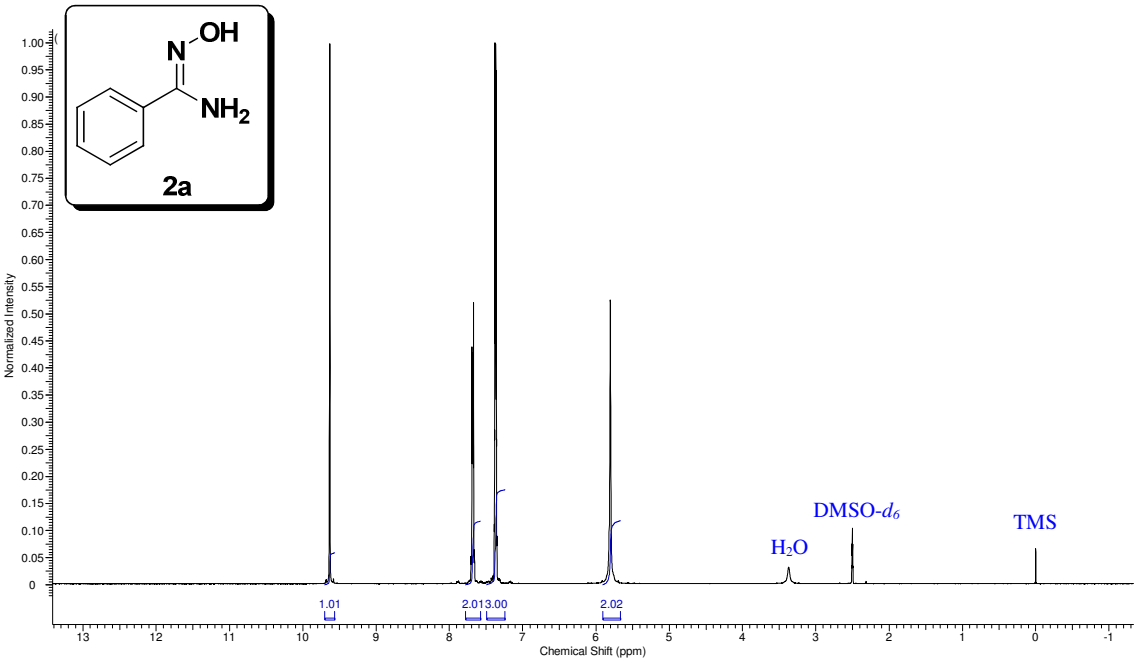


***Figura MS8**. Espectro de RMN ^{1}H (DMSO-d_6, 400 MHz) da Benzamidoxima (**2a**).*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

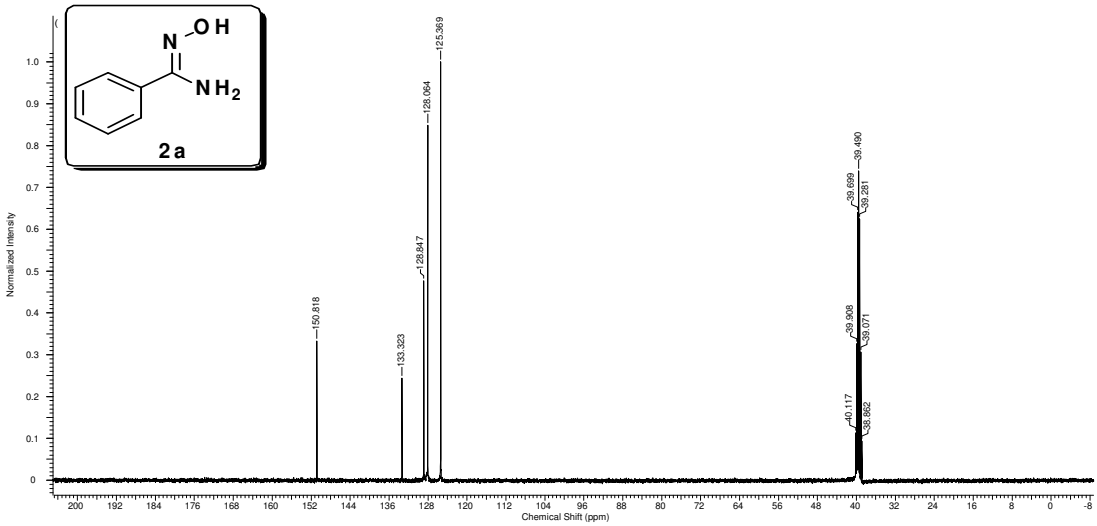


***Figura MS9**. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO-d_6, 100 MHz) da Benzamidoxima (**2a**).*

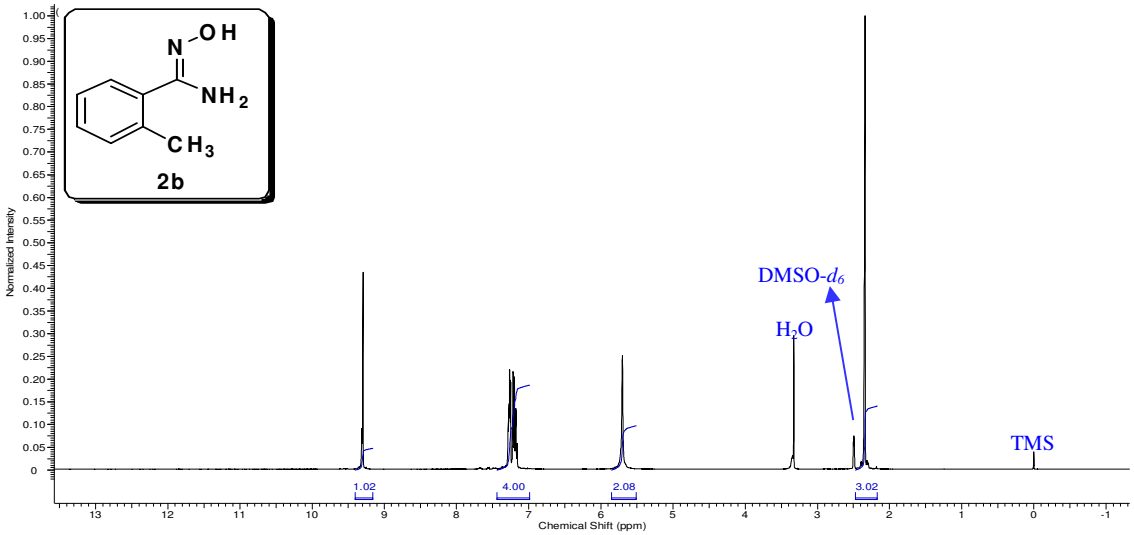


***Figura MS10**. Espectro de RMN ^{1}H (DMSO-d_6, 400 MHz) do 2-Metilbenzamidoxima (**2b**).*

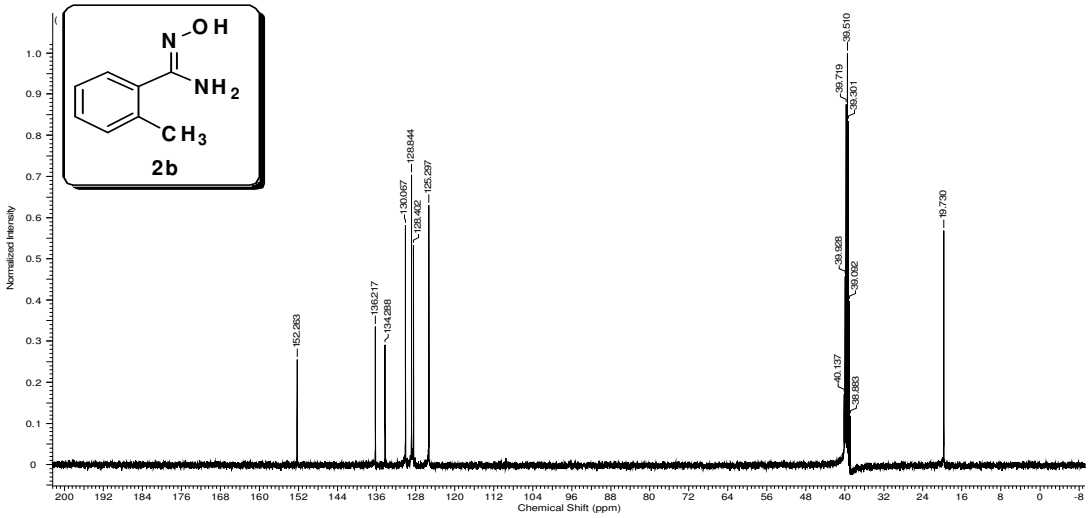


***Figura MS11**. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO-d_6, 100 MHz) do 2-Metilbenzamidoxima (**2b**)*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

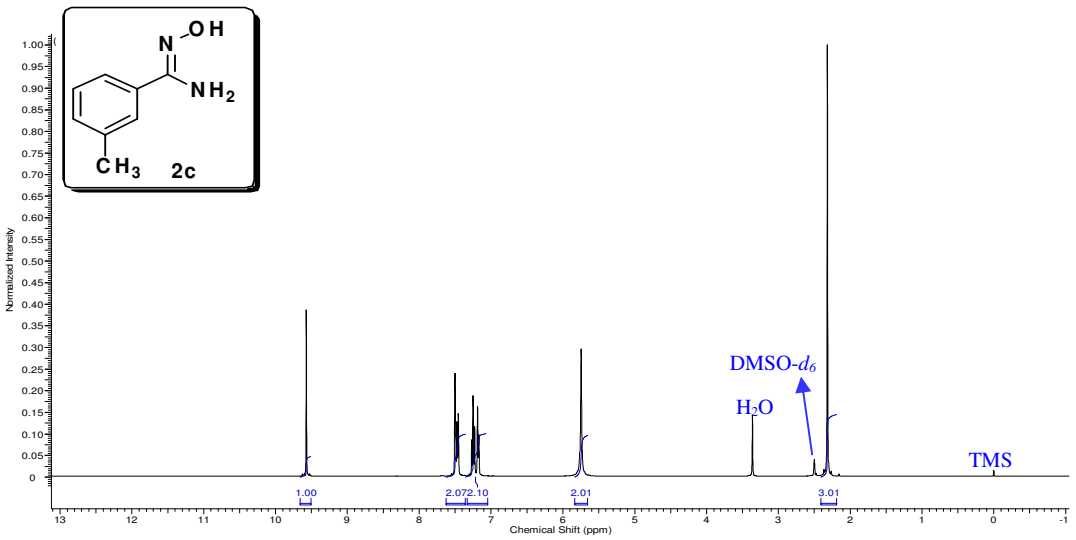


***Figura MS12**. Espectro de RMN ^{1}H (DMSO-d_6, 400 MHz) do 3-Metilbenzamidoxima (**2c**).*

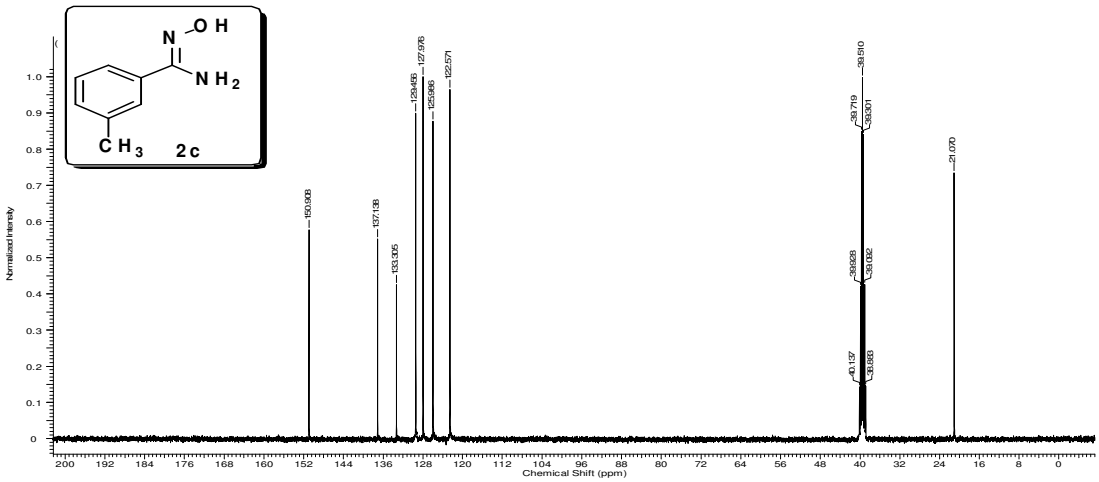


***Figura MS13**. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO-d_6, 100 MHz) do 3-Metilbenzamidoxima (**2c**).*

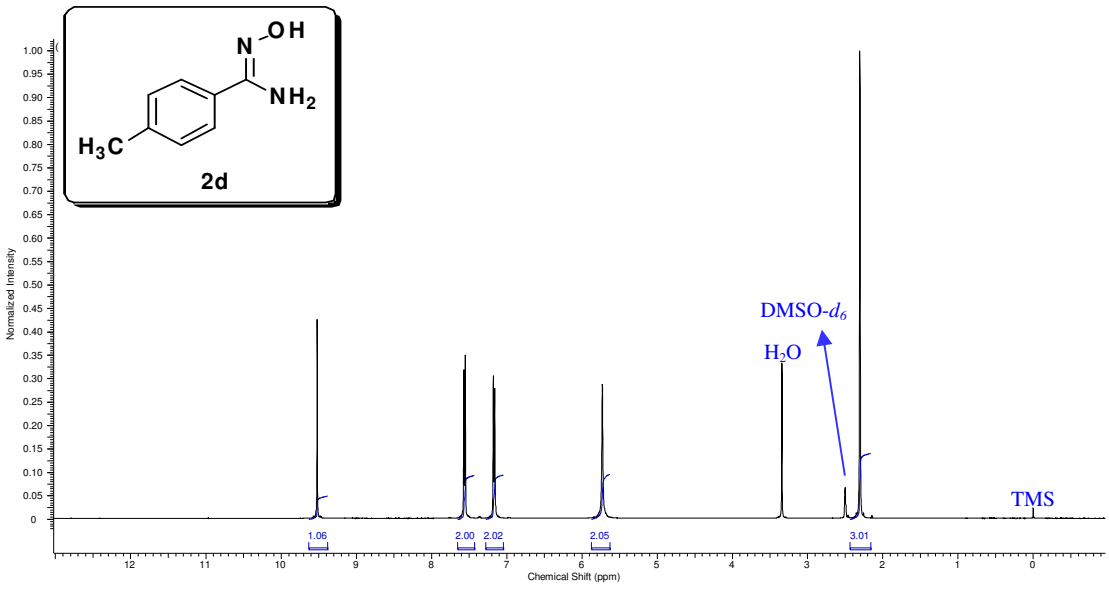


***Figura MS14**. Espectro de RMN ^{1}H (DMSO-d_6, 400 MHz) do 4-Metilbenzamidoxima (**2d**).*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

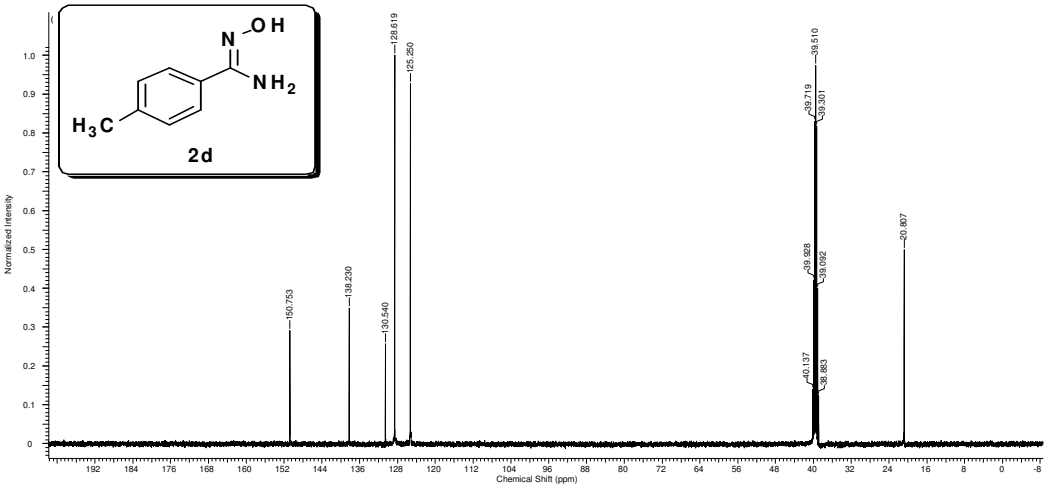


***Figura MS15**. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO-d_6, 100 MHz) do 4-Metilbenzamidoxima (**2d**).*

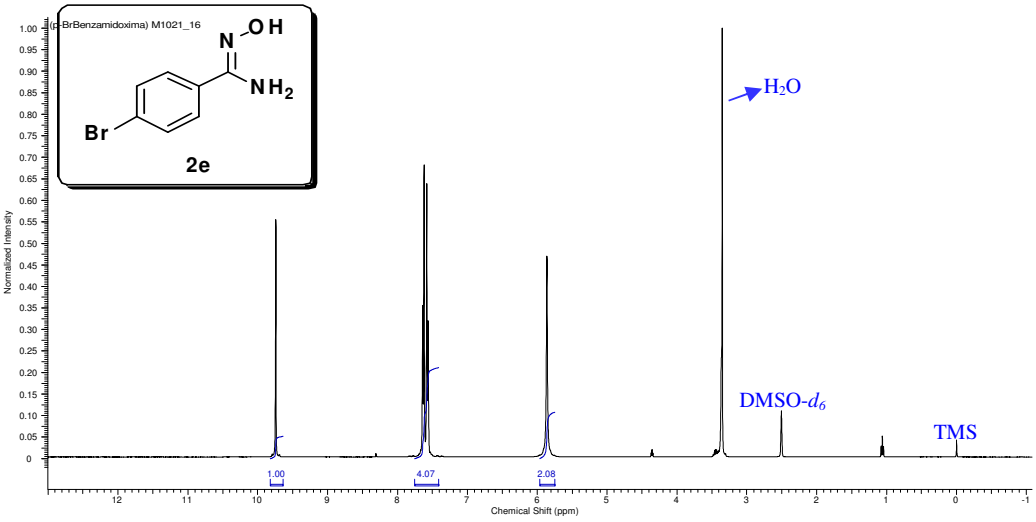


***Figura MS16**. Espectro de RMN ^{1}H (DMSO-d_6, 400 MHz) do 4-Bromobenzamidoxima (**2e**).*

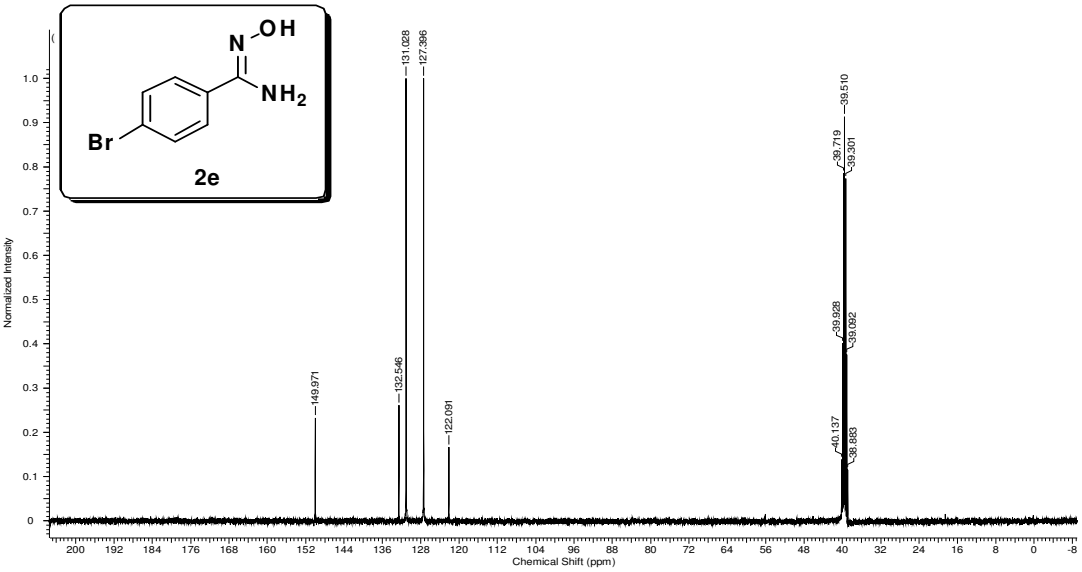


***Figura MS17**. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO-d_6, 100 MHz) do 4-Bromobenzamidoxima (**2e**).*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

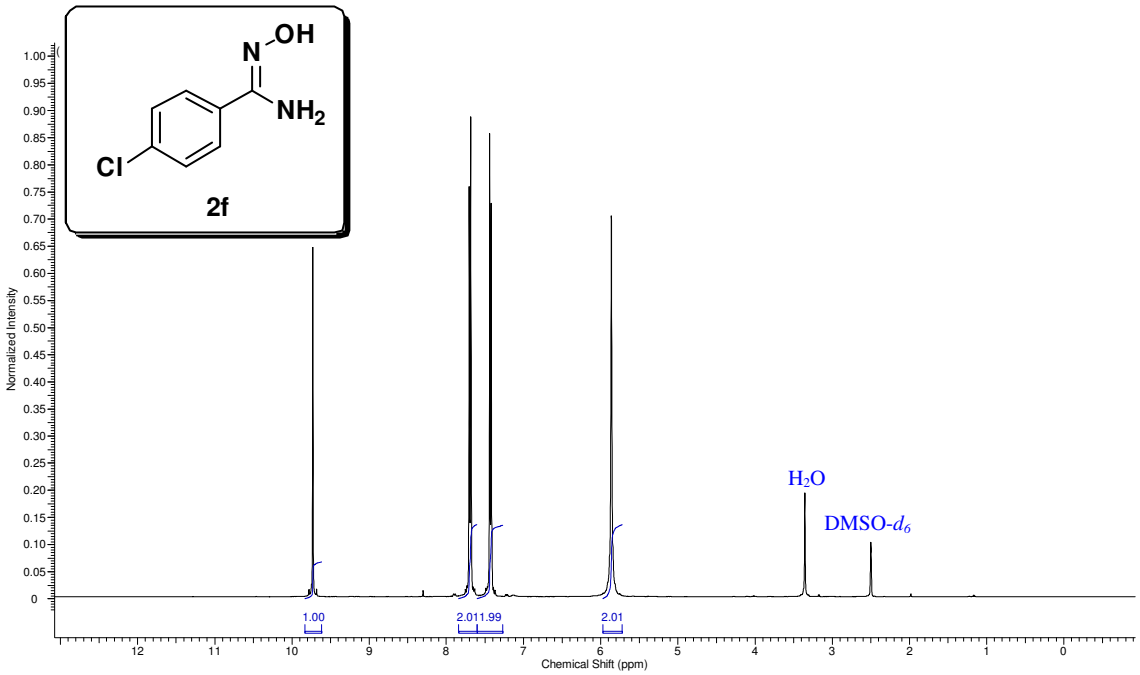


***Figura MS18**. Espectro de RMN ^{1}H (DMSO-d_6, 400 MHz) do 4-Clorobenzamidoxima (**2f**).*

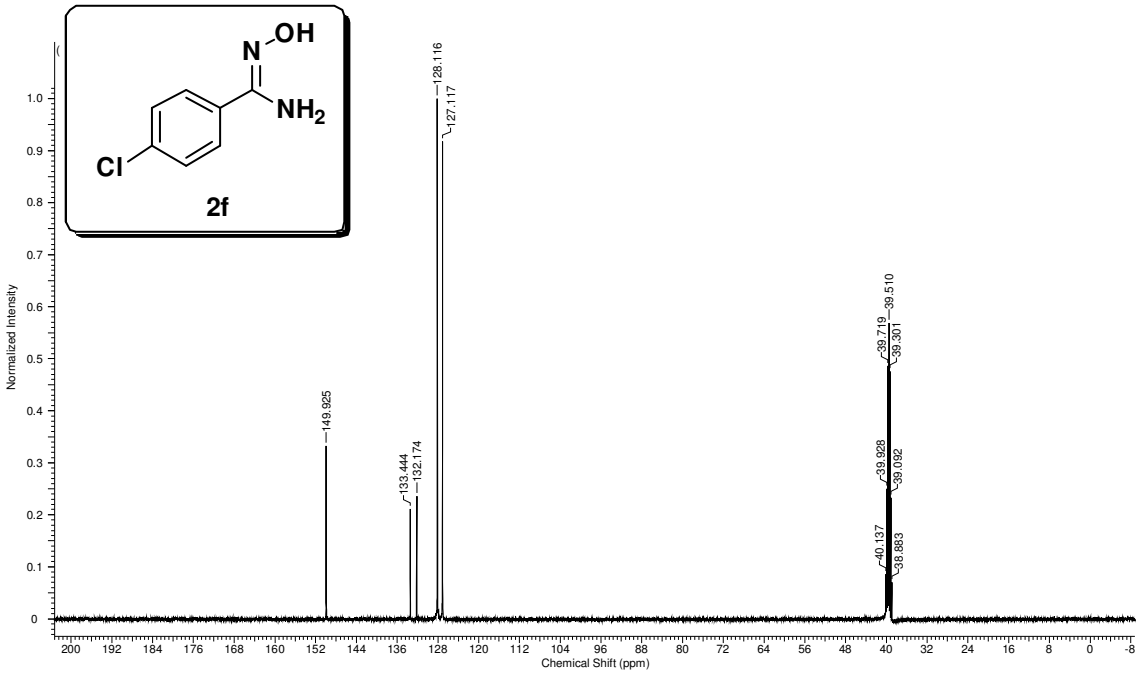


***Figura MS19**. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO-d_6, 100 MHz) do 4-Clorobenzamidoxima (**2f**).*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

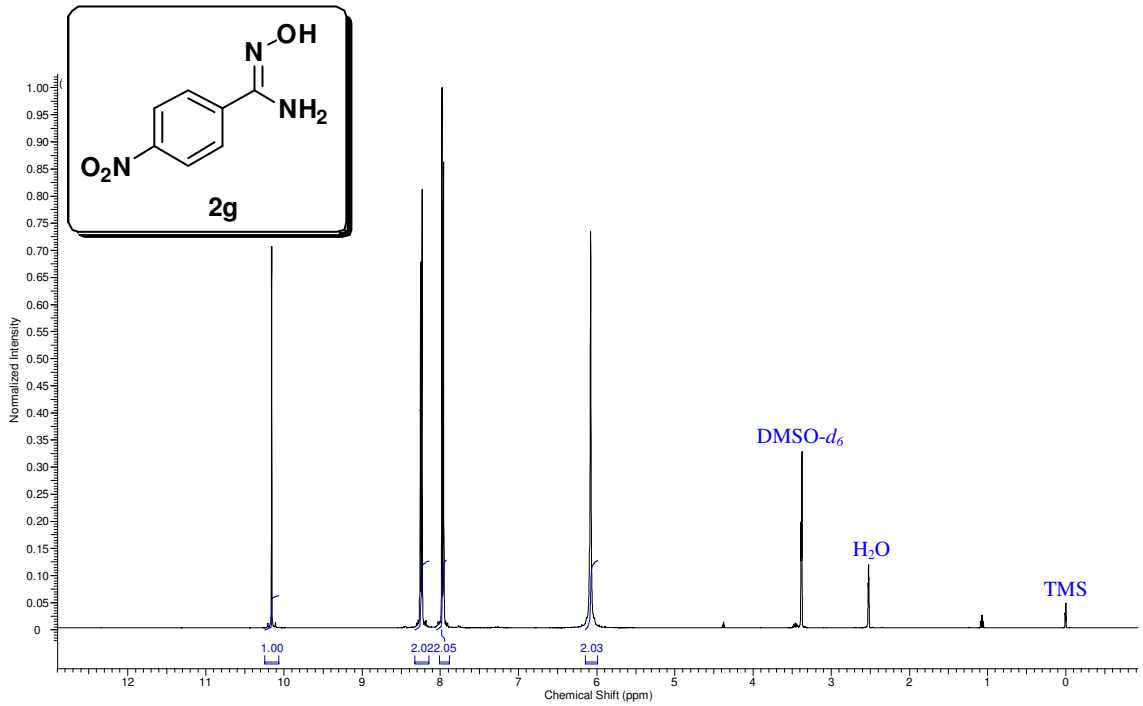


***Figura MS20**. Espectro de RMN ^{1}H (DMSO-d_6, 400 MHz) do 4-Nitrobenzamidoxima (**2g**).*

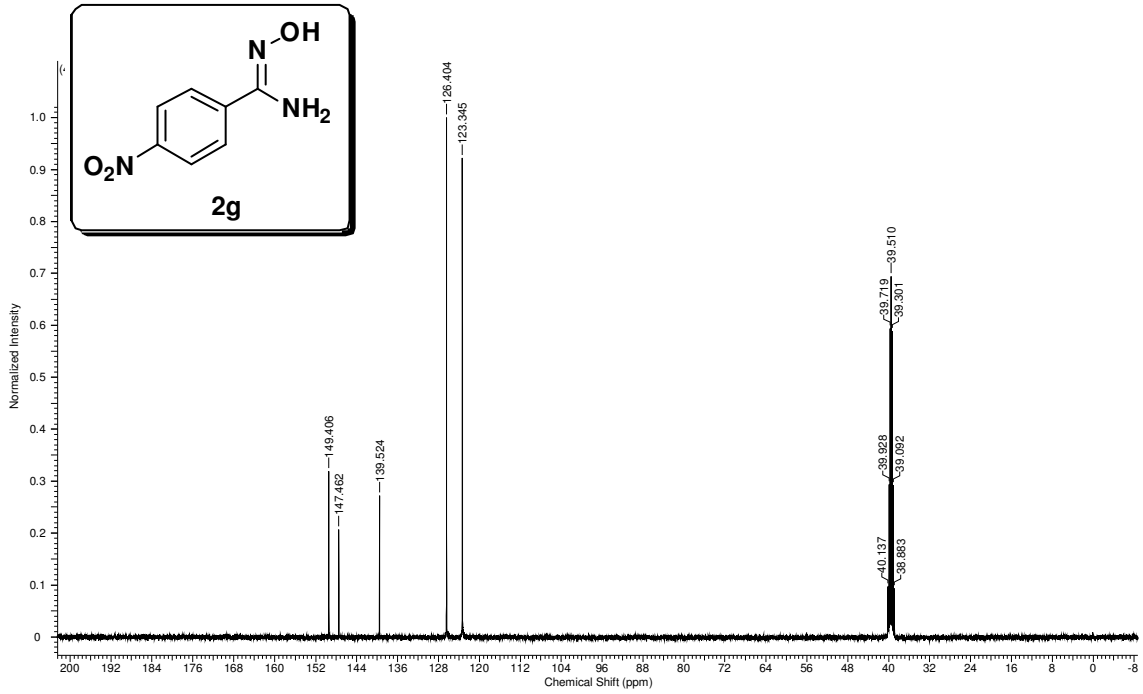


***Figura MS21**. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO-d_6, 100 MHz) do 4-Nitrobenzamidoxima (**2g**).*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ESTUDO TEÓRICO DA GEOMETRIA ESTRUTURAL E PROPRIEDADES ELETRÔNICAS DO DIBORETO DE MAGNÉSIO (MgB_2)

THEORETICAL STUDY OF STRUCTURAL GEOMETRY AND ELECTRONIC PROPERTIES OF MAGNESIUM DIBORETH (MgB2)

MATTJE, Vanessa Mendes[1]; PINHEIRO, André Rodrigues[2]; PEREIRA, Douglas Henrique*[3]

[1,2,3] Colegiado de Química, Universidade Federal do Tocantins, Campus de Gurupi, 77410-530, Gurupi – Tocantins, Brasil

** Autor correspondente*
e-mail: doug@uft.edu.br

Received 04 August 2018; received in revised form 30 September 02, 07 2018; accepted 03 October 2018

RESUMO

O presente trabalho fez um estudo teórico molecular das propriedades estruturais e eletrônicas dos isômeros geométricos do diboreto de magnésio (MgB_2). O sistemas possui características específicas, sendo muito promissor para aplicações tecnológicas, tais como em dispositivos geradores de imagens de ressonância magnética, motores e geradores. O mesmo ainda é empregado nas indústrias de aparelhos eletrônicos, em trens flutuantes (MAGLEV), energia elétrica e no Biomagnetismo. Os resultados demonstram que o isômero geométrico com o menor valor de energia é a espécie cíclica, sendo esta a mais estável. As entalpias padrões de formação encontradas foram de 205,38 Kcal mol^{-1} e 45,66 Kcal mol^{-1} para o MgB_2-cíclico e para o B-Mg-B respectivamente. Por meio da análise dos orbitais moleculares de fronteira foi possível identificar a forma dos orbitais HOMO – LUMO e como os mesmo contribuem para as bandas ligantes e antiligante e logo para as propriedades supercondutora do composto. Por último, a análise NBO, confirmou que o isômero geométrico mais estável é o MgB_2-cíclico, apresentando mais interações entre os orbitais doadores e receptores.

Palavras-chave: *MgB_2, Energia, Estabilidade, FMO, NBOs*

ABSTRACT

The present work made a molecular theoretical study of the structural and electronic properties of the geometric isomers of magnesium diboride (MgB_2). The systems have specific characteristics and are very promising for technological applications, such as magnetic resonance imaging devices, motors, and generators. The same is still used in the industries of electronic devices, floating trains (MAGLEV), electricity and Biomagnetism. The results show that the geometric isomer with the lowest energy value is the cyclic species, which is the most stable. The formation enthalpies found were 205.38 Kcal mol^{-1} and 45.66 Kcal mol^{-1} for MgB_2-cyclic and for B-Mg-B respectively. By means of the analysis *Frontier Molecular Orbital* it was possible to identify the shape of the HOMO - LUMO orbitals and how they contribute to the ligand and anti-ligand bands and thus to the superconducting properties of the compound. Finally, the NBO analysis confirmed that the most stable geometric isomer is MgB2-cyclic, presenting more interactions between donor or receptor orbitals.

Keywords: *MgB_2, Energy, Stability, FMOs, NBOs*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

Os estudos de supercondutores têm despertado interesse na comunidade científica, em relação ao seu potencial tecnológico, propriedades físicas e termodinâmicas, como por exemplo: estabilidade energética, condutividade térmica, elásticas, propriedades elétricas e estruturais (Tzeli e Mavridis ,2005 e Lee e Wright, 2004).

Devido à grande importância dos supercondutores, deve-se destacar um supercondutor, o diboreto de magnésio (MgB_2), que possui sua estrutura eletrônica em constante estudo e propriedades supercondutoras excelentes (Hirsch, 2001).

A princípio sintetizaram o MgB_2, um composto intermetálico simples vendido por fornecedores de materiais inorgânicos por aproximadamente três dólares o grama (Branício, 2001). Já a sua composição em forma de pó, a cada dia vêm sendo explorada e estudada com o intuito de uma produção mais rentável e acessível. No entanto, essas propriedades do diboreto de magnésio são peculiares, sendo que ainda estão na fronteira entre a pesquisa e a sua produção industrial (Li e Dou, 2010).

As propriedades do MgB_2 fazem dele um material promissor para aplicações tecnológicas, devido apresentar resistividade elétrica nula abaixo de uma temperatura característica. Nessa vertente, quando usado em aparelhos eletroeletrônicos os dispositivos supercondutores proporcionariam a eficiência máxima, favorecendo que toda a energia elétrica seja consumida sem perdas com o efeito Joule. Outras aplicações do diboreto de magnésio são fruto de sua propriedade de diamagnetismo perfeito, fazendo deles essenciais na produção de altos campos magnéticos, podendo ser usado em trens flutuantes (MAGLEV) e até na detecção de campos magnéticos fracos, como por exemplo o Biomagnetismo, que detecta pequenos campos magnéticos gerados pelo corpo humano (CARNEIRO, 2000).

Assim, o MgB_2 vêm sendo usado cada vez mais, nas formas de dispositivos geradores de imagens, ressonância magnética, limitadores de corrente, geradores e motores (Tomsic *et al*., 2007). Com o passar dos anos, houve um interesse em aumentar a densidade da corrente crítica do MgB_2, a 4.2 K e também aumentar a temperatura através da introdução de dopantes (Flükiger e Hossain, 2009). Logo os estudos têm sido otimizados quando se trata da adição de diversas fontes de carbono no *bulk* do MgB_2 (Agatsuma *et al*.,2006; Yamamoto *et al*.,2005 e Dou *et al*., 2002) Com os avanços nas pesquisas em busca de diversas fontes de carbono para uma possível dopagem no MgB_2, podemos destacar os compostos: carbono nanométrico (Mudgel *et al*., 2009), nano SiC e grafeno (De Silva *et al*., 2012), nanotubos de carbono (Dou *et al*., 2003), carbeto de sílicio (Dilek *et al*.,2011; Dou *et al*., 2003), carboidratos (Kim *et al*. 2006), carbeto de boro (Zhang *et al*., 2012), hidrocarbonetos aromáticos (Yamada *et al*., 2006), grafite (Xu *et al*., 2004) e diamante (Zhao *et al*.,2003).

Devido suas inúmeras aplicações trabalhos (Tzeli e Mavridis,2005) vêm sendo realizados com o MgB_2 utilizando métodos quânticos como o QCISD/6-311G* e CCSD (T)/cc-pVTZ, em que, os autores prevêem diferentes estados fundamentais para a molécula, como por exemplo, $^3B_1$ e $^1A_1$, respectivamente (Tzeli e Mavridis ,2005). Nesse contexto, surgem trabalhos (Lee e Wright, 2004) investigando e obtendo informações espectroscópicas sobre o MgB_2.Vale ressaltar que encontrar a estrutura adequada da molécula pode endereçar o sucesso da pesquisa e dos avanços tecnológicos. Além das possibilidades estruturais do MgB_2 há também as propriedades eletrônicas dos compostos de Boro como o MgB_2 que despertam grande interesse. (Lee e Wright, 2004)

Deste modo, este trabalho teve por objetivo estudar as propriedades eletrônicas e estruturais dos isômeros geométricos da molécula de diboreto de magnésio: MgBB, BMgB, MgB_2-cíclico, Figura 1.

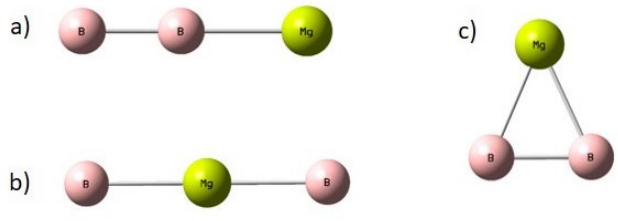


Figura 1. – Representação estrutural dos isômeros do Diboreto de Magnésio: a) MgBB, b) BMgB e c) MgB_2-cíclico.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

MATERIAS E METODOS

Todas as estruturas foram otimizadas até seu mínimo de energia com o funcional híbrido de três parâmetros de troca e correlação de Becker e Lee, Yang e Parr (Becke, 1988 e Lee 1988), com função de base aug-cc-pVTZ. As frequências vibracionais foram obtidas no mesmo nível de teoria, B3LYP/aug-cc-pVTZ. Cálculos *single points* foram realizados com a geometria ótima nos níveis MP2, MP3, MP4, MP5 e CCSD(T) com a mesma função de base. Todas as análises mecânico-quânticas realizadas no trabalho usaram a função de onda no nível Coupled-Cluster.

Para avaliar melhor a estabilidade de uma ligação química, utilizou-se o método de Orbitais Naturais de Ligação, *NBO - Natural Bond Orbitals* (Glendening *et al*., 2012). A análise permite avaliar a transferência de energia que ocorre de um orbital ligante para um antiligante, incluindo efeitos como de ressonância, eletrônico, estérico, hiperconjugação entre outros (Glendening *et al*., 2012).

Todos os cálculos foram realizados usando o programa gaussian 09 (Frisch *et al*.,2009).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do trabalho se encontram divididos nas seguintes seções: geometria estrutural e frequências vibracionais; cálculos de energia; entalpia padrão de formação; orbitais moleculares de fronteira; análises NBOs e considerações finais.

GEOMETRIA ESTRUTURAL E FREQUÊNCIAS VIBRACIONAIS

Para uma melhor compreensão da molécula de MgB_2, foi realizado a elucidação da melhor geometria estrutural dos isômeros. Assim todas as geometrias foram otimizadas e as frequências vibracionais calculadas.

Os resultados dos cálculos das frequências vibracionais harmônicas das moléculas estudadas encontram-se representadas na Tabela 1. Os resultados evidenciam que o isômero Mg-B-B, apresenta uma frequência negativa com valor de -136,314 cm^{-1} o que demonstra que essa espécie não está no seu mínimo de energia.

Os demais isômeros geométricos não apresentaram frequências imaginárias e somente estes foram consideradas nas etapas conseguintes.

Tabela 1. *Frequências encontradas, em* cm^{-1}*, para as espécies estudadas no trabalho no nível de teoria B3LYP/* aug-cc-pVTZ.

Molécula	1	2	3
B-Mg-B	65,885	65,885	414,009
Mg-B-B	-136,314	84,114	1040,096
MgB_2-ciclico	438,122	485,209	*

Além do estudo de frequências também foram investigados os comprimentos de ligação para as espécies de interesse, Tabela 2. As moléculas diatômicas B_2 e MgB foram calculadas para fornecer parâmetros comparativos para os isômeros. Os resultados demonstram que para a espécie B-Mg-B houve um aumento na ligação Mg-B de aproximadamente 0,115 Å quando comparado com a molécula diatômica Mg-B. Já para a espécie cíclica houve uma diminuição de aproximadamente 0,088 Å na ligação B-B e 0,220 Å para a ligação Mg-B, quando comparado com as moléculas diatômicas, tal resultado é fruto da formação do anel entre os átomos Mg, B e B, confirme representado na Figura 1c.

Tabela 2. *Comprimentos de ligação, em Ångstrom, para os isômeros do diboreto de magnésio e para as espécies MgB e* B_2*. Os resultados foram obtidos pelo método B3LYP/* aug-cc-pVTZ.

Molécula	Mg-B	B-B
B-B	-	1,636
Mg-B	2,423	-
B-Mg-B	2,538	-
MgB_2-cíclico	2,202	1,548

CÁLCULOS DE ENERGIAS

Os resultados de energia para os métodos B3LYP, MP2, MP3, MP4, MP5 e CCSD (T), estão representados na Tabela 3. Fica evidente que para todos os métodos empregados o isômero geométrico que obteve o menor valor de energia foi o cíclico sendo esse a espécie mais estável. A diferença de energia entre os isômeros é significativa ficando acima de 70 kcal mol^{-1} para

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

todos os métodos.

Tabela 3. *Energias, em Hartree, calculadas para os isômeros geométricos B-Mg-B e MgB_2-cíclico usando os métodos, B3LYP, MP2, MP3, MP4, MP5 e CCSD, com função de base aug-cc-pvTz.*

Método	B-Mg-B	MgB_2-cíclico
B3LYP	-249,463779	-249,584002
MP2	-248,825352	-248,970110
MP3	-248,860959	-248,977337
MP4	-248,870487	-248,980732
MP5	-248,881426	-248,999799
CCSD(T)	-248,886157	-249,011692

Entre os métodos *ab initio* estudados, MP2, MP3, MP4, MP5 e CCSD(T), o que forneceu a menor energia para os sistemas foi o CCSD(T). Este resultado é fruto da teoria de Clusteres empregada na metodologia (Morgon, 2007). Os resultados não foram comparados com o funcional B3LYP, pois o mesmo se deriva da teoria do funcional de densidade.

Os resultados entrados corroboram com a estrutura cristalina do sólido MgB_2 que é composta por triângulos isósceles idênticos como referenciado por Tzeli e Mavridis (2005). É importante ressaltar que cálculos de estados sólidos não foram realizados nesse trabalho e que o enfoque foi puramente molecular

ENTALPIA-PADRÃO DE FORMAÇÃO

Através da termoquímica do Gaussian foi possível calcular a entalpia de formação, $\Delta_f H(298,15)$, dos isômeros no nível de teoria CCSD(T)/aug-cc-pVTZ. Usou-se os valores estabelecidos de $\Delta_f H(298,15)$ por Ochterski (2000), sendo para o Mg (34,87 ± 0,2 Kcal mol^{-1}) e para o B (136,2 ± 0,2 Kcal mol^{-1}).

A Tabela 4 evidencia os resultados obtidos para as espécies MgB_2-cíclico e B-Mg-B e também os resultados referenciados por Lee e Wright (2004) para o isômero cíclico. Os valores de entalpia de formação calculados foram de 205,38 Kcal mol^{-1} para o sistema MgB_2-cíclico e de 45,66 Kcal mol^{-1} para o B-Mg-B. Comparando o resultado encontrado de entalpia de formação para o isômero cíclico com os da literatura, pode-se verificar uma pequena diferença quando comparados resultado das metodologias adotas. É importante citar que não foram encontrados valores experimentais de entalpia de formação das espécies estudadas e por isso não houve comparação com os valores experimentais. Os resultados calculados também podem ser usado como referência para outros estudos visto que o nível utilizado é no trabalho é de alta acuracidade.

Tabela 4. *Entalpia de formação ($\Delta_f H$ em Kcal mol^{-1}) para os isômeros geométricos MgB_2-cíclico e B-Mg-B.*

Molécula	**$\Delta_f H(298,15)$**	**$\Delta_f H(298,15)$ (a)**
B-Mg-B	45,66	-
MgB_2 - cíclico	205,38	194,3 ± 0,2

Nota: (a) Dados obtidos a partir da referência Lee e Wright (2004).

ORBITAIS MOLECULARES DE FRONTEIRA

Com a intenção de elucidar a reatividade química em nível atômico, surgiram os orbitais moleculares de fronteira (FMO: *Frontier Molecular Orbital*). Através desse conceito foi possível predizer a posição mais reativa sobre as espécies químicas, sendo capaz de analisar a densidade eletrônica através dos orbitais das moléculas (Pereira *et al.*, 2016).

Segundo Fukui, o HOMO ou o LUMO podem não ser adequados para uma dada reação, mas, certamente o próximo orbital ou qualquer orbital que tem energia muito próxima do HOMO ou do LUMO poderia ser usado (Pereira *et al.*, 2016). Tendo em vista a grande importância dos orbitais de fronteira, cálculos dos mesmos foram realizados paras as espécies MgB_2-cíclico e B-Mg-B, Figura 2.

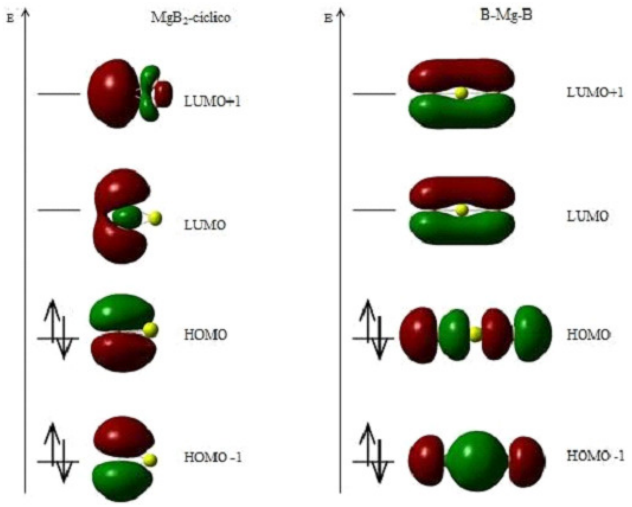


Figura 2. – *Orbitais Moleculares de Fronteira para a) MgB2-Ciclico e b) B-Mg-B.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Através da Figura 2, observa-se que os isômeros MgB_2-cíclico e B-Mg-B apresentam o orbital HOMO no formato π no plano da molécula.

A forma dos orbitais evidencia a formação de bandas π ligante e também anti-ligantes. Uma possível explicação para esse composto apresentar propriedades de supercondução são devido suas bandas que estão ligadas em camadas de átomos de boro adjacentes, em que a sua densidade de carga estende-se nas direções paralelas e também nas direções perpendiculares aos planos dos átomos de Boro, favorecendo a origem de estados de condução tridimensionais. A Figura 2 mostra a o formato dos orbitais e essa tendência.

Além disso, é necessário levar em consideração o potencial atrativo dos íons Mg^{2+}, que favorece a transferência de cargas das entre as bandas.

ORBITAIS NATURAIS DE LIGAÇÃO (NBO)

Foi realizada a análise dos orbitais naturais de ligação, NBOs, com a finalidade de avaliar as principais interações estabilizadoras que ocorrem entre os NBOs formalmente ocupados e desocupados.

Nas tabelas 5-7 estão representadas as principais interações para as moléculas B_2, B-Mg-B e MgB_2-cíclico.

Tabela 5. *Energia de estabilização de segunda ordem (ΔE^2 em kcal.mol^{-1}), diferenças de energia entre orbitais (ε_i-ε_j), e elementos da matriz de Fock (F(i,j)), do B_2.*

NBO doador	NBO receptor	ΔE^2 kcal.mol	(ε_i-ε_j)	F(i,j) u.a
σ B1-B2	π* B1-B2	150,57	0,55	0,256
π B1-B2	nσ* B1	5,96	0,77	0,065
π B1-B2	nσ* B2	5,33	0,77	0,061
π B1-B2	σ* B1-B2	165,54	0,64	0,291
π B1-B2	π* B1-B2	11,42	0,22	0,045

Tabela 6. *Energia de estabilização de segunda ordem (ΔE^2 em kcal.mol^{-1}), diferenças de energia entre orbitais (ε_i-ε_j), e elementos da matriz de Fock (F(i,j)), do B-Mg-B.*

NBO doador	NBO receptor	ΔE^2	(ε_i-ε_j)	F(i,j)u.a
nσ B3	σ* Mg1-B2	5,10	0,54	0,054
nπ B3	σ* Mg1-B2	178,86	0,23	0,183
nσ B3	nπ B3	8,90	0,31	0,089
σ Mg1-B2	nπ B3	3,00	0,17	0,038

Tabela 7. *Energia de estabilização de segunda ordem (ΔE^2 em kcal.mol^{-1}), diferenças de energia entre orbitais (ε_i-ε_j), e elementos da matriz de Fock (F(i,j)), do MgB_2 – cíclico.*

NBO doador	NBO receptor	ΔE^2	(ε_i-ε_j)	F(i,j) u.a
σ Mg1-B2	nσ* B3	214,55	0,29	0,229
σ Mg1-B2	π* B2–B3	61,28	0,30	0,133
σ B2-B3	σ Mg1-B2	20,59	0,43	0,160
σ B2-B3	σ* Mg1-B2	4,64	0,75	0,015
σ B2-B3	π* B2–B3	25,51	0,72	0,125
π B2-B3	σ Mg1-B2	6,29	0,05	0,027
π B2-B3	nσ* B3	15,26	0,34	0,069
π B2-B3	σ* Mg1-B2	34,27	0,38	0,103
π B2-B3	σ* B2–B3	21,18	0,88	0,127

As interações mais intensas para a molécula diatômica B_2, Tabela 5, ocorrem entre orbitais *sigmas* (σ) para *pi* antiligante (σB1-B2 →π*B1-B2) e também (π B1- B2 → σ*B1- B2). Essas interações são fruto da interação dos orbitais p desocupados do átomo de Boro.

Para a espécie B-Mg-B, Tabela 6, a interação mais intensa, 178,86 kcal mol^{-1}, acontece entre o orbital π do boro com o orbital σ* da ligação Mg-B do outro átomo, (nπ B3 → σ* Mg1-B2). Essa interação entre os orbitais evidencia que o orbital p vazio do átomo de boro influência na estabilidade das moléculas.

Para o isômero cíclico, Tabela 7, há uma forte interação entre os orbitais ligantes e antiligantes, (σMg1- B2 → π* B2- B3), (σMg1- B2 → nσ* B3) ambos com altas energias de estabilização 61,28 Kcal mol^{-1} e 214,55 Kcal mol^{-1}, respectivamente. Outras interações com valores de energias de estabilização significativas são: (πB2 - B3 → σ* B3), (πB2 - B3 → σ* Mg1- B2) e (πB2 - B3 → σ* B2- B3). Essas interações acontecem devido a estrutura eletrônica do átomo de Boro como mencionado anteriormente.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Para a espécie Mg-B os resultados não aparecem representados, pois não houve nenhuma interação significativa entre os orbitais, acima de 3 kcal mol^{-1} (ΔE^2).

Os resultados de NBO confirmam que o isômero geométrico mais estável é o MgB_2-cíclico, uma vez que ele apresenta um maior número de interações entre o NBO doador e receptor e energias de estabilização superiores e mais significativas do que os outros isômeros.

O resultado de NBO vão de encontro com os resultados anteriores obtidos.

CONCLUSÕES

O trabalho evidenciou que entre os isômeros estudados o mais estável é o MgB_2–cíclico, pois é a espécie que apresentou o menor valor de energia para todos os métodos empregados.

As entalpias de formação encontrada para os isômeros MgB_2-cíclico e B-Mg-B foram de 205,38 Kcal mol^{-1} e 45,66 Kcal mol^{-1} respectivamente. Os resultados de entalpia foram calculados em nível CCSD(T)/aug-cc-pVTZ e podem ser utilizados como referências, pois não foi encontrados valores experimentais para as espécies. Já Por meio da análise dos orbitais moleculares de fronteira foi possível identificar a forma dos orbitais HOMO e LUMO, além de aferir a forma das bandas ligantes e antiligante. Por fim através da análise NBO, verificou-se que o isômero MgB_2-cíclico apresenta mais interações entre os orbitais doadores e receptores estabilizando assim e estrutura.

AGRADECIMENTOS

O autor D. H. Pereira agradece o suporte financeiro do CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, processo n. 446651/2014-1), a CAPES e a Universidade Federal do Tocantins-UFT, pois o desenvolvimento desta pesquisa contou com benefícios do Programa Novos Pesquisadores da UFT (PROPESQ/UFT). O autor também agradece o Centro Nacional de Processamento de alto Desempenho em São Paulo CENAPAD e a UNICAMP pelos recursos computacionais.

REFERÊNCIAS:

1. Agatsuma, K.; Furuse, M.; Umeda, M.; Fuchimo, S.; Lee, W. J.; Hur, J. M. *Trans. Appl. Supercond*, **2006**, 16, 1407.
2. Becke, A. D. *Phys. Rev. A 38*, **1988**, 3098.
3. Branício, P. S. *Rev. Bras. Ensino Fis*, **2001**, 23,381.
4. Carneiro, A. A. O.; Ferreira, A.; Moraes, E. R.; Araújo, D. B.; Sosa, M.; Baffa, O.; *Rev. Bras. Ensino Fis*, **2000**, 22, 324.
5. De Silva, K. S. B. *Scripta Mater*, **2012**, 67, 802.
6. Dilek, T. *J. Supercond. Nov. Magn,* **2011**, 24, 495..
7. Dou, S. X. *Appl. Phys. Lett,* **2002**, 81,3419.
8. Dou, S.X. *J. Appl. Phys*, **2003**, 94, 1850.
9. Flükiger R.; Hossain, M. S. A.; Senatore C, **2009**, *Supercond. Sci. Tech,* 22,095016.
10. Glendening, E.D.; Landis, C.R.; Weinhold, F. *Rev. Comput. Mol. Sci,* **2012**, 2, 1.
11. Hirsch, J. E. *Phys. Lett. A*, **2001**, 282,392.
12. Kovác, P.; Husek, I.; Melišek, T.; Kopera, L.; Reissner, M. *Supercond. Sci. Tech,* **2010**, 23,1.065010.
13. Kim, J. H.; Zhou, S.; Hossain, M. S. A.; Pan, A. V. *e* Dou, S. X. *Appl. Phys. Lett,* **2006**, 89,142505.
14. Kitaguchi, H.; Kumakura, H.; and Togano, K. *Phys. C*. **2001**, 363
15. Kovác,P.; Dhallé, M.; Melišek,T.; van Eck, H J N; Wessel, W A J; ten Haken, B; Hušek, I. *Supercond. Sci. Technol*, **2003**, 16.
16. Lee, C.; Yang, W. and Parr, R. G. *Phys. Rev. B*, **1988**, 37, 785.
17. Lee, E. P. F.; Wright, T. G. *J. Phys. Chem*, **2004**, 108, 7424.
18. Li, W.; Dou, S. X. Superconducting properties of carbonaceous chemical doped MgB_2 Superconductor. ed A M Luiz (Rijeka, Croatia: InTech), **2010**, chapter 6.
19. Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G.A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery, J. A.; Peralta Jr., J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

N.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, J. M.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, Ö.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J.; *Gaussian 09*, Revision D.01, Gaussian, Inc.: Wallingford CT, 2009.

20. Morgon, N. H.; Coutinho, K. Métodos de química teórica e modelagem molecular. São Paulo: Editora Livraria da Física, **2007**.
21. Mudgel, M.; Chandra,V.; Ganesan, L. S. S.; Bhalla, G. L.; Kishan, H. *and* Awana, V. P. S. *J. Appl. Phys,* **2009**, 106, 033904.
22. Ochterski, J. W. *Thermochemistry in Gaussian,* **2000,** 19, acessado em janeiro de 2018.
23. Pereira, D. H.; Porta, F. A. L. ; Santiago, R. ; Garcia, D. R.; Ramalho, T. C. *Rev. Virt. Quím*, **2016**, 8, 425
24. Tomsic, M.; Rindfleisch, M.; Yue, J.J; McFadden, K.; Phillips, J.; Sumption, M. D.; Bhatia, M., Bohnenstiehl, S. D.; and Collings, E. W. *Int. J. Appl. Ceram. Technol*. **2007**, 4, 250.
25. Tzeli,D., Mavridis, A. *J. Phys. Chem,* **2005**, *109*, 10663.
26. Xu, H. L. *China Phys. Lett,* **2004**, 21, 2511.
27. Yamada, H.; Hirakawa, M.; Kumakura, H.; and Kitaguchi, H. *Supercond. Sci. Tech.y*. **2006**, 19, 175..
28. Yamamoto, A.; Shimoyama, J.; Ueda, S.; Iwayama, I.; Horii, S. and Kishio, K. *Supercond. Sci. Tech,* **2005**,18, 1323.
29. Yamamoto, A.; Shimoyama, J.; Ueda, S.; Katsura, Y.; Iwayama, I.; Horii, S. *and* Kishio K. *Appl. Phys. Lett,* **2005**, 86,1.937991.
30. Zhang, Y. B.; Shan, X.J.; Bai,X. W.; Liu, T.Y.; Zhu, H. M. and Cai, C.B. *Supercond. Sci. Tech,* **2012**, 25,095003.
31. Zhao, Y.; Cheng, C.H. *Appl. Phys. Lett,* **2003**, 83,1.1606884.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INFLUÊNCIA DA *PATRINIA SCABIOSIFOLIA* NA RESISTÊNCIA DE CAMUNDONGOS À VIBRAÇÃO DE CORPO INTEIRO

INFLUENCE OF *PATRINIA SCABIOSIFOLIA* ON THE RESISTANCE OF MICE TO WHOLE-BODY VIBRATION

ВЛИЯНИЕ *ПАТРИНИИ СКАБИОЗОЛИСТНОЙ* НА РЕЗИСТЕНТНОСТЬ МЫШЕЙ К ДЕЙСТВИЮ ОБЩЕЙ ВИБРАЦИИ

KHASINA, Eleonora*

Federal Scientific Center for Biodiversity of Terrestrial Biota of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences
159, prosp.100-letiya Vladivostoka, Vladivostok 690022, Russian Federation

** Corresponding author*
eleonorakhas@mail.ru

Received 14 September 2018; received in revised form 09 October 2018; accepted 09 October 2018

RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar a eficácia de *P. scabiosifolia* na correção do estado fisiológico e psicossomático de camundongos expostos a vibrações agudas e prolongadas em todo o corpo. O efeito de uma tintura de 40% água-álcool a partir das raízes de *P. scabiosifolia* foi investigada em camundongos CD-1 sob a influência da vibração de corpo inteiro induzida por um agitador ou exposição ao transporte rodoviário. Componentes emocionais, orientados à exploração e, motor comportamentais foram observados em campo aberto. O desempenho físico foi avaliado pela duração da natação até a fadiga com um peso de 7% conectado à raiz da cauda. Os índices metabólicos foram corticosterona sérica, glicogênio, lactato e trifosfato de adenosina do fígado e do músculo esquelético. A droga administrada por via oral na dose de 5 ml / kg otimizou as reações comportamentais dos animais, aumentou seu desempenho no exercício, melhorou o estado hormonal e o metabolismo energético no fígado e músculo esquelético e tecidos sob a influência da vibração do corpo inteiro. A tintura de *P. scabiosifolia* possui um efeito vibroprotetor e pode ser recomendada para a prevenção e tratamento de distúrbios neurofisiológicos causados por vibração de corpo inteiro, em combinação com terapia básica.

Palavras-chave: PatriniascabiosifoliaFisch. exLink, reações comportamentais, desempenho no exercício, metabolismo, vibração em todo o corpo

ABSTRACT

The aim of the study was to evaluate the effectiveness of *P. scabiosifolia* in correcting the physiological and psychosomatic state of mice exposed to acute and prolonged whole-body vibration. The effect of a 40% water-alcohol tincture from the roots of *P. scabiosifolia* was investigated in CD-1 mice under the influence of whole-body vibration induced by a shaker or exposure to road transportation. Emotional, exploratory-oriented and motor behavioral components were observed in the open field. Physical performance was evaluated by the duration of swimming until fatigue with a 7% weight attached to the tail root. Metabolic indices were serum corticosterone, glycogen, lactate and adenosine triphosphate of the liver and skeletal muscle. The orally administered drug at a dose of 5 ml/kg optimized the behavioral reactions of the animals, increased their exercise performance, improved hormonal status, and energy metabolism in liver and skeletal muscle and tissues under the influence of whole-body vibration. The *P. scabiosifolia* tincture possesses a vibroprotective effect and can be recommended for the prevention and treatment of neurophysiological disorders caused by whole-body vibration, in combination with basic therapy.

Keywords: *Patriniascabiosifolia Fisch. exLink .behavioral reactions, exercise performance, metabolism, whole-body vibration*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

АННОТАЦИЯ

Целью исследования была оценка эффективности *п. скабиозолистной* в коррекции физиологического и психосоматического состояния мышей, подверженных действию острой и длительной общей вибрации. Эффект 40%-ной водно-спиртовой настойки из корней п. скабиозолистной исследовался на мышах линии CD-1 при воздействии общей вибрации, индуцированной шуттель-встряхиванием или дорожно-транспортным воздействием. Эмоциональный, исследовательско-ориентировочный и двигательный компоненты поведения мышей наблюдали в «открытом поле». Физическую работоспособность оценивали по длительности плавания животных с 7%-м грузом на основании хвоста до полного утомления. Метаболическими показателями служили кортикостерон сыворотки крови, гликоген, лактат и аденозинтрифосфат печени и скелетной мышцы. Перорально введенный препарат в дозе 5 мл/кг оптимизировал поведенческие реакции животных, повышал их физическую работоспособность, улучшал гормональный статус и энергетический метаболизм в тканях печени и скелетных мышц и мышей при воздействии общей вибрации. Настойка *патринии скабиозолистной* обладает вибропротективным действием и может быть рекомендована для профилактики и лечения нейрофизиологических нарушений, вызванных общей вибрацией, в сочетании с базисной терапией.

Ключевые слова: *Patriniascabiosifolia Fisch. exLink*, поведенческие реакции, физическая работоспособность, метаболизм, вибрация

INTRODUCTION

Vibration is an extreme factor of the man-made environment, which to some extent accompanies man and animals: vibro-dangerous professional activity and all types of transportation, conditions of industrial livestock. To date, the influence of vibration on the physiological, neuroendocrine, morphological and metabolic levels of the body is fully studied; the concept of 'vibrational stress' and an independent nosological unit 'vibration disease' appeared in practical medicine and veterinary medicine (Babanov *et al.*, 2012). Under vibration stress (the initial and moderately pronounced manifestation of vibration in the early stages of the pathological process), the basic role in the interaction between various systems of the organism is played by the autonomous, peripheral and central nervous systems that trigger the subsequent psychosomatic disturbances (Ivanova, 1991; Ronchese and Bovenzi, 2012).

In spite of the fact a significant amount of measures funds aimed at eliminating various 'aggressive' effects of vibration are developed, fundamental and practical pharmacology aims at searching for and studying the action mechanism of known and recently emerged vibroprotectors (Johanning, 2015). In case of functional disorders of the nervous system and the somatic state of humans and animals, adaptogens, anxiolytics (tranquilizers), plant-derived sedatives (Peeters *et al.*, 2005; Hur and Lee, 2010) are effective in a stressful situation.

The purpose of the study was to evaluate the effectiveness of the tincture of *P. scabiosifolia*, having adaptogenic and sedative action, as a vibroprotective agent.

MATERIALS AND METHODS

Sexually mature male mice of the CD-1 line (the nursery of the Pacific Institute of Bio-organic Chemistry, FER RAS) with a body weight of 22-25g were used in the study. The animals were kept in standard conditions of the vivarium; mixed feed compliant with GOST R 50258-92 (CJSC ProKorm, Russia) and water was supplied without restriction. Each experimental group consisted of 7 animals; each mouse in the cage had a floor area of 70 cm^2, which corresponds to international standards. The work was carried out in accordance with the normative documents 'Order of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation No. 199n of April 1, 2016 On Approval of the Rules for Appropriate Laboratory Practice' and Directives 2010/63 / EU of the European Parliament and the Council of the European Union for the Protection of Animals used for scientific goals'. The tincture of *Patrinia*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

scabiosifolia Fisch. ex Link (*fam., Caprifoliaceae*; TPS) was prepared by maceration from the roots and rhizomes in 40% ethanol (Vorobieva and Shabanov, 2015). In laboratory experiments, animals received a dealcoholized drug intragastrically at a dose of 5 ml/kg on an empty stomach in two ways: once an hour before the vibration (1TPS) or for five days preceding it (5TPS). In full-scale experiments, the drug was administered an hour before the road transportation. The animals of the control group and those exposed only to vibration (without the drug) received the equivolume amount of saline.

In laboratory conditions, whole–body vibration was simulated by placing the cell with mice on the platform of the ABU-6 shaker (oscillation frequency range 120 vibrations/min, acceleration 1.5 m/s^2, duration of a single exposure 2 hrs). The noise level created by the shaker was minimal and did not exceed 40 dB (measured by the NTM-1 sound level meter, Italy).

The state of physiological functions in mice during vibration was estimated by forced swimming test and behavioral activity tests. To determine exercise performance immediately after the two-hour vibration impact, mice were swimming with a 7% load of its body weight on the tail root until complete exhaustion in an 80 × 60 × 50 cm aquarium at a water temperature of 30 °C. Free behavior of the animals was assessed during 3 min in the open field test (installation 'Open Field', LLC Open Science, Russia) for the following components: horizontal motor activity (HMA; number of crossed arena sectors), vertical motor activity (VMA, standing alone or holding onto the installation wall), grooming (all types of body washing and cleaning), examination of the field holes, and the level of defecation and urination.

Biochemical indices were determined by unified methods: the level of corticosterone in the blood serum was measured spectrofluorometrically, the amount of lactate and adenosine triphosphate (ATP) in the liver and in the skeletal (gastrocnemius) muscle was measured spectrophotometrically (in the test system with nicotinamidedinucleotides NADP and NAD·H, respectively) and glycogen was measured using an anthrone reagent.

In the field experiment, the mice were subjected to single-day or seven-day road transportation along a highway with a hard surface, covering a distance of 100 km with an average speed of 50 km/h. External weather conditions for transportation were as follows: clouds, air temperature 21 °C, air humidity 65%, atmospheric pressure 756 mmHg, the noise level on the highway 85-90 dB. Inside the bus cabin the temperature, humidity, the degree of dust and gas contamination corresponded to the norm, the noise level varied within 75-78 dB, the actual equivalent corrected levels of total vibration along the axes were: X-106, Y-105, Z-113 dB. To measure the level of vibration and noise in the cabin during the entire route, an on-site inspection was carried out in the testing laboratory of the Far Eastern Regional Center for Occupational Safety (Vladivostok) with the noise and vibration analyzer "Assistant".

Statistical processing was carried out with the program Statistica, v. 8.0. The significance of the differences between the compared groups was established using the Student's t-test and the one-way ANOVA dispersion analysis. The data in the tables are presented as the mean ± standard error of the mean (M ± m).

RESULTS

A two-hour stay in conditions of general vibration (transmitted through the supporting surfaces of the body) in a shaker caused in mice significant deviations in the body from the physiological norm in such vital functions as metabolism, physical performance, and behavioral responses. Table 1 presents the data on the significant disorders in the hormone-metabolic homeostasis of mice exposed to vibration. The animals showed marked stress, as indicated by the corticosterone level which exceeds the norm by 29%. In accordance with the regulatory role of corticosteroids in the metabolic systems of the body, there are significant deviations in the energy supply of the liver and skeletal muscle in mice under the impact of vibration. Immediately after vibration, these tissues displayed a clear deficit of energy substrates. Thus, the level of ATP and glycogen in the liver was 21 and 22% below the physiological norm, in the muscle, the indices were 22 and 29%, respectively. Moreover, both tissues revealed an increased content of lactate – 26 and 29%, respectively.

Patrinia, administered once or for five days running (once daily) before the vibration impact significantly minimized the degree of stress without changing the direction of the

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

hormonal and metabolic changes in the body (Table 1). The decrease in the level of corticosterone (stress marker) in the blood serum by 13 and 26% relative to the 'vibration' group (1TPS and 5TPS administered respectively) suggests optimizing the energy supply of the animal organism under the conditions of this unfavorable physical factor. Indeed, the content of ATP, glycogen and lactate in the liver differed from the norm only by 8, 6, and 9% (1TPS) and 3, 9, and 12% (5TPS), whereas in animals that did not receive the drug the deviations in case of vibration were 21, 22, and 26%, respectively. In skeletal muscle, a higher level of energy reserves was also observed: the difference compared to control in the levels of ATP, glycogen, and lactate was 11, 12, and 9% (1TPS) and 5, 8, and 14% (5TPS); in the 'vibration' group the levels were 22, 29, and 29%, respectively. The energy-protective effect of *Patrinia* is directly indicated by the conservation of the resources of ATP and glycogen in the liver and muscle tissues of mice at the optimal level with the simultaneous weakening of acidosis.

The study revealed that vibration significantly reduced the physical efficiency of mice. The duration of swimming time until complete fatigue after vibration was significantly lower than in the animals of the control group - by 31% (Table 2). The drug administered to the animals in both groups before the vibration increased the endurance during physical exertion by swimming. The endurance of the animals which were given TPS immediately after the exposure to vibration was below the control value only by 15 (1TPS) and 11% (5TPS); without the drug being administered the level was 31%, which indicates the actoprotective effect of TPS (Table 2).

In a parallel experiment, functional disorders of the nervous system in mice caused by general vibration were revealed. Analysis of motor activity in the open field showed a behavioral change in the animals, indicating their anxious excitement (Table 2). Horizontal motor activity in the open field (jogging through the arena sectors) 3 min after the vibration impact was above the control level by 52%. Vertical motor activity (standing) exceeded the norm by 21%. Acts of grooming (body washing and cleaning) characterizing the emotional state of animals were higher than the control level by 30%. It should be noted that defecation and urination (which are a manifestation of emotions) during the testing of mice in the open field were practically not observed. However, in the cell where the animals were subjected to vibration boluses and wet zones were significantly increased in number than in the control group. The animals' research reaction (peeking into holes and sniffing) in the case of short (3 min) post-vibration testing was not observed, although the number of standing does reflect some research activity, in addition to nonspecific excitability. *Patrinia* revealed a neuroprotective effect, reducing emotional tension and bringing the correlation of behavioral responses into correspondence (Table 2). The drug is administered, HMA, VMA and grooming acts differed from the norm levels: in the case of 1TPS the levels were 22, 11 and 0%, and in the case of 5TPS the levels were 8, 15, and 10% respectively (in the control group the difference was 52, 21, and 30%).

In the field experiment, the mice were subjected to single-day or seven-day transportation (vibration combined with an inadequate noise level) along with a highway with a hard surface, covering a distance of 100 km. The physiological state of animals was judged by physical performance – an integral indicator of functional preparation for overcoming the effects of a negative stress factor. After single-day transportation, the ability of mice to swim until fully exhausted was reduced by 31%, and after seven-day transportation by 20% (Table 3). It should be noted that the physical capacity of animals with repeated exposure to vibration and noise is noticeably higher than in single exposure; apparently, there is some adaptation to this combined stressor. *Patrinia* tincture contributed to slower fatigue while performing intense unavoidable activity: the physical performance of mice in the 'forced swimming' test significantly exceeded the indication of the 'vibration' group subjected to single-day or seven-day transportation (vibration impact) - by 18 and 17%, respectively (Table 3).

DISCUSSION

The pattern of psychosomatic disorders in mice in the present experiment is consistent with various studies (Yanshina and Liubchenko, 2001; Mazina *et al.*, 2004). Deficiency of ATP, acidosis, and glycogenolysis in the liver and skeletal muscle indicate disruption of adaptive-compensatory capabilities in animals under

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

vibration impact. It is known that vibration (both local and general) act in combination with a number of environmental factors and dominates in technogenic conditions of animal life and in all types of transportation (Prisby *et al.*, 2008). Vibroacoustic effect on mice is stressful, as phylogenetically anthropogenic noise and vibration were absent in their vital natural activity. It should be noted that the noise and vibration levels in the cabin of the bus corresponded to the indications for the driver (GOST 12.1.012 - 2004 'SOSS (System of occupational safety standards), Vibration Safety: General Requirements'.

Metabolic and functional disorders in mice due to vibrational impact are a consequence of a neuro-reflex and neurohumoral nature (Toshima and Endo, 2006; Mazina *et al.*, 2004). With excessive excitation of the nervous system, which provokes psychosomatic disorders, anxiolytics, tranquilizers, and sedatives are used (Panossian and Wikman, 2005).

It is known that drugs based on *P. scabiosifolia* possess sedative and adaptive effect and are promising in arresting the excited state of animals (increased anxiety and motor hyperactivity) and, at the same time, disadaptation disorders from internal organs and tissues caused by a stressful situation and used in the treatment of insomnia, anxiety and inflammation of various genesis (Khasina, 2013; Meoli *et al.*, 2005; Zorikova and Khasina, 2005; Zou *et al.*, 2015).

The finding of the present study has shown that tincture *P. scabiosifolia* did not fully eliminate, yet it significantly reduced the degree of psychosomatic disorders in mice after a situational and prolonged vibration impact, apparently through the regulation of the neuroendocrine and metabolic links of the adaptive process.

P. scabiosifolia can be vicarious with Valerianaofficinalis since it belongs to the same family of *Caprifoliaceae* (Hidalgo *et al.*, 2010). It is widespread in the Far Eastern region of the Russian Federation, northern China, Japan, and the Korean peninsula.

CONCLUSIONS:

The present research revealed that the *P. scabiosifolia* root tincture was efficient in suppressing vibration stress responses in mice. This vibroprotective effect might be due to increasing duration of physical work until absolute fatigue and normalization of vibration-related behavioral alterations. This drug has increased the nonspecific resistance of mice to whole-body vibration by energy-saving effect at the expense of hindrance of exhaustion of glycogen and adenosine triphosphate reserves in the liver and skeletal muscle and optimization hormonal status of animals.

The findings of the present study indicate that *P. scabiosifolia* root tincture is promising as a preventive remedy for increasing the non-specific resistance of animals and human to whole-body vibration.

REFERENCES:

1. Babanov, S. A.; Vakurova, N. B.; Azovskova, T. A.; *Vibration disease. Optimization of diagnostic and therapeutic interventions,* Ofort: Samara, 2012.
2. Hidalgo, O.; Mathez, J.; Garcia, S.; Genome size study in the *Valerianaceae*: first results and new hypotheses; *J. Botany* **2010.** ID 797246.
3. Hur, J. W.; Lee, J. Y.; Effects of chronic vibration stress on liver, kidney and testes of the soft-shelled turtle *Pelodiscussinensis*; *J. Appl. Anim. Res.* **2010,** 37(2), 241.
4. Ivanova, L. A., ed.; Technology of medicinal forms, *Medicine* **1991,** 2, 364.
5. Johanning, E.; Whole-body vibration-related health disorders in occupational medicine – an international comparison; *Ergonomics* **2015,** 58(7), 1239.
6. Khasina, E. I.; Correction of the stress-reaction of mice on intensive noise with *Patrinia scabiosifolia* tincture; *Newletter of the Samara Scientific Centre of the RAS* **2013,** 15, 3(6), 1980.
7. Mazina, N. K.; Vorobieva, V. V.; Alexeeva, O. A.; Babin, A. P.; Influence of energy metabolism regulators on the rats physical endurance damaged by general vibration (experimental research); *Medical Newsletter of Vyatka* **2004,** 1, 11.
8. Meoli, A. L.; Rosen, C.; Kristo, D.; Oral nonprescription treatment for insomnia: an evolution of products with limited evidence; *J. Clin. Sleep Med.* **2005,** 1(2), 173.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

9. Mohammadzadeh, S.; Karimian, H.; Khosra, H.; Shahbazi, F.; Effect of different mechanical vibration on blood parameters of one day old broiler chicken; *Anim. Res. Int.* **2015,** 12(1), 2143.

10. Pankov, V. A.; Kuleshova, M. V.; Katamanova, E. V.; Kartapoltseva, N. V.; Vibration influence on functional activity of nervous system in experimental animals; *Bulletin of East Siberian Scientific Center SB RAMS* **2013,** 3 (2), 113.

11. Panossian, A.; Wikman, G.; Effect of adaptogens on central nervous system; *Arquiv. Brasil. Fitomed. Cientifica* **2005,** 3(1), 29.

12. Peeters, E.; Neyt, A.; Beckers, F.; Influence of supplemental magnesium, tryptophan, vitamin C and vitamin E on stress responses of pigs to vibration; *J. Anim. Sci.* **2005,** 83(7), 1568.

13. Prisby, R. D.; Lafage-Proust, M.; Malaval, L.; Effect of whole body vibration on the skeleton and other organ systems in man and animal models: what we know and what we need to know; *Ageing Res. Rev.* **2008,** 7, 319.

14. Ronchese, F.; Bovenzi, M.; Occupational risk and health disorders in transport drivers; *G. Ital. Med. Lav. Ergon*. **2012,** 34(3), 352.

15. Toshima, H.; Endo, Y.; Effect of whole-body vibration on autonomic nervous system; *Autonom. Neurosci. Basic Clin.* **2006,** 130(1), 65.

16. Ubeeva, I. P.; Tsibikova, E. N.; Rasuvaeva, Y. G.; Phytocorrection of diseases of nervous system (literature review); *Bulletin of Buryat State University* **2013,** 12, 7.

17. Ushkalova, A. B.; Illarionova, T. S.; Efficiency and safety of herbal antidepressant and sedative remedies; *Pharmateca* **2007,** 20(154), 10.

18. Vorobieva, V. V.; Shabanov, P. L.; *Vibration and vibroprotectors (Pharmacology of extreme state: in 12 volumes. Vol. 6),* Inform Navigator: St.Petersburg, 2015.

19. Yanshina, E. N.; Liubchenko, P. N.; Phsychoemotional disorders in vibration disease; *Occupational medicine and industrial ecology* **2001**, 2, 32.

20. Zorikova, O. G.; Khasina, E. I.; *Patrinia scabiosifolia;* Dalnauka: Vladivostok, 2005.

21. Zou, W.; Wen, X.; Zheng, Y.; Metabolic study on preventive effect of *Patrinia scabiosaefolia Fisch.* On multipathogen induced pelvic inflammatory disease in rats; *Evidence-based Complem. Altern. Med.* **2015.** ID 170792.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 1. *Influence of the tincture of P. scabiosifolia (TPS) on hormone-energy metabolism in mice under vibration*

Parameter	Group of animals			
	control	vibration	vibration + 1TPS	vibration + 5TPS
Corticosterone, μmol/L	0,31±0,02	0,40±0,02*	0,35±0,02	0,32±0,01**
ATP, μmol / g				
liver	3,36±0,07	2,65±0,12*	3,08±0,05**	3,26±0,07**
muscle	4,40±0,09	3,45±0,13*	3,93±0,07**	4,17±0,10**
Glycogen, μmol/g				
liver	234,2±11,1	181,8±7,6*	220,2±14,4**	213,5±10,1**
muscle	23,5±1,23	16,6±1,04*	20,6±0,71**	21,6±0,74**
Lactate, μmol/g				
liver	2,40±0,09	3,02±0,10*	2,51±0,17**	2,68±0,10**
muscle	2,91±0,14	3,75±0,13*	3,17±0,09**	3,33±0,07**

Note: ATP – adenosine triphosphate; 1TPS – one-time introduction 1 hour before the vibration; 5TPS – an introduction for 5 days prior the vibration (once daily, on an empty stomach). * - P <0.05 – compared with the 'control' group; ** - P <0/05 –compared with the 'vibration' group.

Table 2. *Influence of TPS on exercise performance and behavioral reactions of mice under the influence of whole-body vibration*

Group of animals	Exercise performance		Locomotor activity acts		
	min	%	HMA	VMA	Grooming
control	20,4±1,57	100	25,7±2,40	7,57±0,48	2,86±0,26
vibration	14,0±1,45*	69	38,9±2,80*	9,14±0,51*	3,71±0,28*
vibration +1TPS	17,4±0,10	85	31,3±1,41**	8,43±0,37	2,85±0,26**
vibration +5TPS	18,1±1,02**	89	27,6±2,59**	8,71±0,47	3,14±0,26

Note: HMA – horizontal motor activity; VMA – vertical motor activity; 1TPS – the one-time introduction of *Patrinia* tincture; 5TPS – five-time one-time introduction of *Patrinia* tincture. * - P <0.05 – compared with the 'control' group, ** - P <0.05 – compared with the 'vibration' group.

Table 3. *Influence of the TPS on the exercise performance of mice under the influence of road transportation*

Group of animals	Road transportation			
	single		multiple	
	min	%	min	%
control	22.8±1.3	100	19.4±1.1	100
vibration	15.8±1.2*	69	15.6±0.9*	80
vibration+TPS	19.8±1.3**	87	18.9±0.9**	97

Note: TPS – tincture of *P. scabiosifolia*, * - P <0.05 – compared with the 'control' group, ** - P <0.05 – compared with the 'vibration' group.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

QUESTÕES RELATIVAS À REVISÃO DA EDUCAÇÃO DE ARQUITETOS E ENGENHEIROS AO ATINGIR O PADRÃO PROFISSIONAL

ISSUES OF REVISING THE APPROACH TO THE EDUCATION OF ARCHITECTS AND ENGINEERS WHEN MOVING TO A PROFESSIONAL STANDARD

ВОПРОСЫ ПЕРЕСМОТРА ПОДХОДА К ОБРАЗОВАНИЮ АРХИТЕКТОРОВ И ИНЖЕНЕРОВ ПРИ ПЕРЕХОДЕ НА ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ

USTYUGOVA, Natalia V.*[1]; POLYANSKAYA, Irina L.[2]

[1,2] Tyumen Industrial University, Construction Institute, Department of Design of Buildings and Urban Construction, 4 Lunacharskiy Str., zip code 625001, Tyumen – Russian Federation
(phone: +73452283660)

** Corresponding author*
e-mail: unata72@mail.ru

Received 12 November 2018; received in revised form 30 November 2018; accepted 07 January 2019

RESUMO

As seguintes questões são consideradas: a transição para o Padrão Educacional do Estado Federal da nova geração de acordo com o padrão profissional; a análise das Normas Educacionais do Estado Federal na edição anterior e nova; a abordagem de competência para a formação das qualidades profissionais de jovens especialistas; dependência do nível de qualificação no nível de educação e prática; a necessidade de revisar os programas educacionais inovadores, a fim de aumentar a motivação dos alunos para a autoeducação e a formação de competências pessoais que assegurem a demanda de jovens profissionais no mercado de trabalho. Argumentos são dados em favor de métodos de educação orientados para a prática e baseados em projetos na preparação de arquitetos e engenheiros de projeto.

Palavras-chave: *Padrão Educacional do Estado Federal, ensino superior, competências pessoais, desenvolvimento de qualidades pessoais, tarefas profissionais complexas.*

ABSTRACT

The following issues are considered: the transition to the Federal State Educational Standard of the new generation in accordance with the professional standard; the Federal State Educational Standards analysis in the previous and new edition; the competence approach to formation the professional qualities of young experts; dependence of the qualification level on the level of education and practice; the need to revise the innovative educational programs in order to increase the motivation of students to self-education and the formation of personal competencies that ensure the demand for young professionals in the labor market. Arguments are given in favor of practice-oriented and project-based methods of education in the preparation of architects and design engineers.

Keywords: *Federal State Educational Standard, higher education, personal competences, development of personal qualities, complex professional tasks.*

АННОТАЦИЯ

Рассмотрены вопросы перехода на Федеральный государственный образовательный стандарт нового поколения в соответствии с профессиональным стандартом; анализ ФГОС ВО предыдущей и новой редакции; компентностный подход при формировании профессиональных качеств молодых специалистов; зависимость квалификационного уровня от уровня образования и практической

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

деятельности; необходимость пересмотра инновационных образовательных программ с целью повышения мотивации обучающихся к самообразованию и формированию личностных компетенций, обеспечивающих востребованность молодых специалистов на рынке труда; приводятся аргументы в пользу практико-ориентированного и проектного методов образования при подготовке архитекторов и инженеров-проектировщиков.

Ключевые слова: *Федеральный государственный образовательный стандарт, высшее образование, личностные компетенции, развитие личностных качеств, комплексные профессиональные задачи.*

INTRODUCTION

The vocational education system in Russia strives to meet the requirements of the modern labor market in the construction industry. And the training of professional personnel in demand in this area is a fundamental task of educational organizations (Rogach *et al.*, 2017).

Along with this, there is also a number of problems related to the specialists' training, since the traditional approach to education is now unable to provide modern business with personnel ready to perform specific tasks, especially in the first period of professional activity; weak personal competence, limited thinking, a fear of taking independent non-traditional decisions, defending one's own opinion, and, consequently, the professional lack of demand of young professionals (Akhmetshin *et al.*, 2018). Nowadays, universities produce experts who have a disparate set of professional knowledge and do not represent how they can apply their knowledge at the beginning of the professional activity.

There are serious changes in the system of professional personal training, designed to increase the demand for young professionals in the modern labor market and meet its needs. At the legislative level, the concept of a "Professional Standard" is established, which graduates of educational institutions should correspond to. The basic professional educational programs of higher education are designed to ensure the graduate's mastering of the fundamental foundations of professional activity, which will allow him to work in a wide range of tasks, including innovative and inter-branch ones, and to continue education throughout his life (Nakhratova *et al.*, 2017).

MATERIALS AND METHODS

Programs of vocational training, secondary vocational education, and additional vocational education prepare graduates for professional activities in the framework of specific types of professional activity and performance a certain set of labor functions; therefore, as a rule, they have a direct connection with the professional standard and are formed accordingly (part 8 of Article 73, part 9 of Article 76 Federal Law "On Education in the Russian Federation", 2012). Thus, Article 195.1 of the Labor Code of the Russian Federation defines the qualification of an employee as "the level of knowledge, abilities, professional skills and work experience", and the professional standard defines the qualifications required for the employee to perform a certain type of professional activity, including the performance of a certain labor function (The Labor Code…, 2001).

In turn, the Federal Law "On Education in the Russian Federation" establishes: Formation of the requirements of the Federal State Educational Standards for vocational education to the results of mastering the basic educational programs of professional education in terms of professional competence is carried out on the basis of relevant professional standards (if any) (part 7 of Article 11 Federal Law "On Education in the Russian Federation", 2012).

These innovations and changes are designed to bring labor and education markets closer together under conditions of the formation of a national qualification system, to satisfy the demands of modern society for the formation of all levels of general cultural and social personality qualities which are not directly related to a particular profession, to reflect not only modern representations of existing professions, but also the demands of the labor market in the future. (Simonin *et al.*, 2016)

The main differences between the previous and the new edition of the Federal State

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Educational Standard of Higher Education:

First, the Federal State Educational Standard of Higher Education of the new generation proposes not to use the term "type of professional activity". This is due to the fact that in the professional standard the "type of professional activity" is a unit for uniting similar groups of posts with the purpose of describing their qualifications (in educational standards, this means a group of similar professional tasks). Instead, Federal State Educational Standard of Higher Education will operate with the notion of "type of professional tasks". It can serve to identify the direction (profile) of the educational program, which brings the competency of the graduate closer to certain types of professional activity in the labor market. Directly the list of professional tasks which the graduate is preparing to, as well as objects of professional activity can also be established in the educational program (if there is an orientation (profile) – they are chosen depending on them) (Pilipenko *et al.*, 2016; Zyalaeva, 2014; Semkin and Sharangovich, 2017).

Secondly, innovation is the revision of the approach to competencies. Thus, universal competencies are identical for all training areas of higher education of one level (separately for bachelor, master, specialist and postgraduate). At the same time, the methods of their formation do not have strict regulation and can vary depending on the specifics of the educational area, the enlarged group of specialties and training areas and direct the direction of training or specialty (Pilipenko *et al.*, 2016).

Thus, the professional standard establishes a national qualification framework that provides nine qualification levels, which those from 6 to 9 of corresponding to the level of higher education.

RESULTS AND DISCUSSION:

However, the framework of qualifications does not establish a rigid relationship between the level of qualifications and the level of higher education. Thus, bachelor's programs correspond to the 6th qualification level, but practical-oriented programs can correspond to the 5th qualification level; the "basic" qualification level corresponding to the master's and specialist's programs is the 7th one, but in some cases the program data can correspond to the 8th qualification level; the postgraduate programs are conditionally correlated with the 8th and 9th levels of qualification.

Such disposability is due to the fact that the qualification level can be achieved in various ways: in addition to training in the basic professional educational programs, the qualification level can be improved by training on additional professional education programs, internship and practice at the enterprise, accumulation of work experience, during the qualification test and etc.

In order to bring the interests of the labor and education markets closer together and realizing the apparent lack of existing professional standards for this task in full, Federal State Educational Standards of Higher Education set the right for educational organizations to use other tools, in addition to professional standards, to form professional competencies, in particular: foresight analysis data on demanded competencies, the development of the structure of professions in the future, the analysis of the labor market, the compilation of foreign experience, consulting with the leading employers and their associations (Vinichenko *et al.*, 2016a; Vinichenko *et al.*, 2016b).

The proposed changes are aimed not only at establishing a closer link between the labor market and the education system but also designed to maintain the higher education as a mechanism for promoting and developing the professional qualifications which potentially change labor markets. However, there is a concern that blind adherence to professional standards can lead to the revival of narrow-profile departments in higher education institutions. Moreover – it contains the danger of substitution the higher education by certain crafts training (Senashenko, 2015; Blinov *et al.*, 2015; Senashenko and Mednikova, 2015). The necessary conditions for ensuring the quality of higher education are motivated students who have a high-quality general education and are able to master the educational programs of higher education, a motivated teacher of high qualification and a quality educational content (Senashenko, 2015; Sergeeva and Voskrekasenko, 2016; Vinichenko *et al.*, 2016).

All this leads to the need to revise the mechanisms for the formation of professional and personal qualities, improve the quality of graduates' training, the use of various educational methods in the study of various disciplines and the flexibility in developing

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

educational programs taking into account the specifics of the market. Currently, there is a four-level system of training: a college graduate, a bachelor (or specialist), a master, a post-graduate student (teacher-researcher) (The order…, 2013).

In order to formulate a strategy for improving the quality of training specialists, key areas for interaction between education, science, business and government organizations are determined, and the following educational levels are agreed upon. When mastering the educational program, universal, general professional and professional competencies should be formed by the graduate.

Universal and general professional competences are established by the Federal State Educational Standard of Higher Education in the training area, and a set of professional competencies is formed on the basis of professional standards, relevant to professional activities based on the analysis of the requirements for professional competencies for graduates on the labor market, the synthesis of domestic and foreign experience, consultations with leading employers, associations of employers of the industry, in which graduates are in demand in the training areas and other sources (Order of the Ministry…, 2017). Thus, the educational organization receives considerable freedom in forming the professional competencies of graduates which meet modern business needs, and, consequently, the ability to react more quickly to changes in the market in this area.

The professional standard "Architect" defines the following groups of classes: Architects of buildings and structures (code ОК3 2161), Techniques for industrial and civil construction (code ОК3 3112), that is, this professional category can include all professionals associated with the architectural and structural design of capital construction facilities (Professional standard…, 2017). As an example, we will describe the generalized labor functions included in the professional standard "Architect" (Table 1). As can be seen from Table 1, as you progress through the levels of education, there is an increase in the requirements for the specialist.

However, professionality is not only in possession of certain skills in a highly specialized area but also in a wide range of knowledge in other related areas. It is impossible to imagine an architect or a design engineer without understanding the basics of town planning, planning and landscaping, engineering surveys and design of building structures, production technology, economics and management of the construction process (Bondaletova, 2014). The process of forming a specialist in the field of architecture and design of buildings and structures is shown in Figure 1.

The graduate's professionality is affected by many factors which are realized in the educational process. Universal competences (UC) and general professional competences (GPK) are established by Federal State Educational Standard of Higher Education. Competences are formed at all stages of higher education systematically. Professional competencies (PC) are established by the educational organization, in accordance with the demand in the labor market. Personal competences (PC) are not regulated by the standard of training, but they are an integral part of the young specialist. This approach will allow us to work out common vectors for the rational organization of a system of inter-branch and multilevel training, systematically form the competencies of a specialist moving to higher levels of education, and, in turn, encourages the educational organization to search for new organizational forms, educational technologies, new methods of interaction of production and education.

In connection with the above mentioned, the student needs a more meaningful approach to obtaining knowledge, skills, and competencies that meet the requirements of a professional standard. It is necessary to raise the level of internal motivation to the educational process, to create a system of ideological attitudes that increase the value and significance of the students' personal participation in gaining knowledge.

The internal and external motivation of educational activity consists of motives relevant to the content of training activities, respectively, aimed at satisfying or overcoming the frustration of other needs not directly related to the performed activity (Gordeeva and Osin, 2012; Vonog and Yarotskaya, 2017; Vcherashniy *et al.*, 2016). Internal motivation is the basic idea in relation to the educational process, which determines the operating procedure, the degree of intensity and depth of the student's immersion in the educational process. Internal educational motivation is determined by the desire to satisfy

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

the need for cognition, achievement, and self-development (Gordeeva and Osin, 2012; Dobritsa, 2016; Shitov, 2015a). There are various methods of organizing the educational process, designed to increase the personal motivation of students to learn and to diversify the process of knowledge and information.

At present, the idea of practice-oriented and project methods becomes an integrated component of a fully developed and structured education system. But the essence of it remains the same – to stimulate the students' interest in certain problems involving the necessary amount of knowledge, and to solve these problems through project activities, developing a reflex (in the terminology of John Dewey) or a critical thinking (Larionov *et al.*, 2014; Shitov, 2015b).

The teacher is playing a completely new role. He ceases to be a carrier of ready-made information and should encourage students to find a solution to a problem or task. During the joint discussion, the teacher directs the students to an optimal solution. The basis of the method of projects is the development of cognitive skills of students, the ability to independently design their knowledge, navigate the information space as well as develop critical and creative thinking (Larionov *et al.*, 2014). When training specialists, one should not forget about the formation of personal competencies of graduates, designed to improve their competitiveness in the labor market.

As business research and direct communication with business representatives show, the basic discontent of the employer today is not the level of graduates' mastery of the challenge of professional programs, but the low degree of personal competence formation. In addition to the ability to perform professional tasks, the employer wants the graduate to be able to conduct a conversation competently and business correspondence, possess the skills of individual and collective creative activity in solving professional problems, and experience in valuing the company (Abitov *et al.*, 2012). Also, the employer highly appreciates such personal qualities as communication skills, perseverance, purposefulness, mastering the art of self-presentation, organizational and personal qualities as well as the ability to take independent decisions.

An effective mechanism for the formation and development of personal competencies of university students should be the following basic elements:

1. The general educational system of extracurricular activities aimed at the formation and disclosure of the personal qualities of students;

2. Setting the task of forming personal competencies as a priority for students passing through educational and manufacturing practices;

3. Introduction to the educational process of elective disciplines such as Time Management, Corporate Culture, Team Building, Development of Personal Qualities, Motivation for Success, etc., aimed at the planned and systematic formation of required qualities.

4. Increasing the number of interactive methods of active and interactive learning, including design and practice-oriented training programs.

Forming a portfolio of student's personal achievements is one of three ways to compete in a professional market.

CONCLUSIONS:

Thus, for the specialists' training in the area of architecture and design of buildings and structures meeting the modern requirements of the labor market, professionally and personally competent, it is optimal to involve students in professional activities at senior courses, combining innovative methods with traditional academic education. It is when the amount of accumulated knowledge has the ability to apply and realize this knowledge in practice, increases the value and usefulness of the material being studied.

It is necessary to change the attitude towards the formation of current study assignments for graduate students, the possibility of solving the end-to-end educational and professional tasks with the subsequent implementation of them in the final qualifying work.

REFERENCES:

1. Abitov, I. R., Alishev, B. S., Anikeyenok O. A., Vasina V. V., Kashapova G. I., Sageyeva E.R., Fisin Yu.M. *Psychological readiness of students to the requirements of the modern labor market: Training manual*, Kazan, Russian Federation, **2012**.
2. Akhmetshin, E.M., Sharafutdinov, R.I.,

• ISSN 1806-0374 (impresso) • ISSN 1806-9827 (CD-ROM) • ISSN 2179-0302 (meio eletrônico)

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Gerasimov, V.O., Dmitrieva, I.S., Puryaev, A.S., Ivanov, E.A., Miheeva, N. M. Research of human capital and its potential management on the example of regions of the Russian Federation. *Journal of Entrepreneurship Education*, **2018**, *21(2)*, 1-14.
3. Blinov, V.I., Batrova, O.F., Yesenina, E.Yu., Faktorovich, A.A. *Higher Education in Russia*, **2015**, *4*, 5-14.
4. Bondaletova, N.F. Management of innovative projects in the construction of housing. *Materials of the Afanasiev Readings*, **2014**, *1*, 135-139.
5. Dobritsa, V.P. *Scientific Journal of the Kursk State University*, **2016**, *1(37)*, 86-90.
6. Federal Law "On Education in the Russian Federation" No. 273-ФЗ dated December 29, **2012**. http://zakon-ob-obrazovanii.ru, accessed August 2018.
7. Gordeeva, T.O., Osin, E.N. *Psychological Research*, **2012**, *5(24)*, 4.
8. Larionov, V.V., Pak, V.V., Bezvershuk, S.A. *Potential of Modern Science*, **2014**, *5*, 72-76.
9. Nakhratova, E.E., Ilina, I.Y., Zotova, A.I., Urzha, O.A., Starostenkov, N.V. Analysis of the relevence of educational programs for applicants and the labor market. *European Research Studies Journal*, **2017**, *20(3A)*, 144-152.
10. Order of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation No. 481 of May 31, 2017 "On approval of the Federal State Educational Standard of Higher Education – bachelor's degree in training area 08.03.01 Construction", **2017**. https://rg.ru/2017/06/2/minobr-prikaz481-site-dok.html, accessed August 2018.
11. Pilipenko, S.A., Zhidkov, A.A., Karavaeva, E.V., Serova, A.V. *Higher Education in Russia*, **2016**, *202(6)*, 5-15.
12. Professional standard "Architect", approved by the Order of the Ministry of Labor and Social Protection of the Russian Federation dated 4 August 2017, No. 616n, **2017**. http://fgosvo.ru/uploadfiles/profstandart/10.008.pdf, accessed August 2018.
13. Rogach, O.V., Frolova, E.V., Medvedeva, N.V., Ryabova, T.M., Kozyrev, M.S. State and public management of education: Myth or reality. *Espacios*, **2017**, *38(25)*, 15.
14. Semkin, A.O., Sharangovich, S.N. *Modern Education: The Development of Technology and the Content of Higher Professional Education as a Condition for Improving the Quality of Graduates: Materials of the International Scientific-Methodical Conference*, Tomsk: Publishing house TSU of control and radio electronics, **2017**, 14-16.
15. Senashenko, V.S. *Higher Education in Russia*, **2015**, *6*, 31-36.
16. Senashenko, V.S., Mednikova, T.B. *Alma mater (Bulletin of Higher Education)*, **2015**, *5*, 60-67.
17. Sergeeva, S.V., Voskrekasenko, O.A. *Education Integration*, **2016**, *20(4)*, 484-492.
18. Shitov, S.B. *Alma Mater (Bulletin of Higher Education)*, **2015b**, *4*, 40-44.
19. Shitov, S.B. *Bulletin of MSTU "Stankin"*, **2015a**, *2(33)*, 119-122.
20. Simonin, P.V., Sokolova, A.P., Bogacheva, T.V., Alexeenko, V.B., Vetrova, E.A. Institutionalization of conflict and compromise solutions and social and labor relations in higher educational institutions. *Indian Journal of Science and Technology*, **2016**, *9(19)*, 93906.
21. The Labor Code of the Russian Federation No. 197-F3 dated December 30, **2001**. http://www.trudkod.ru/, accessed August 2018.
22. The order of organization and implementation of educational activities for higher education educational programs – bachelor's programs, specialty programs, master's programs, approved by the Minister of Education of the Russian Federation D.V. Livanov, dated December 19, No. 1368, **2013**. http//fgosvo.ru/uploadfiles/proekty%20doc/PP_Pororg.pdf, accessed August 2018.
23. Vcherashniy, P.M., Gafurova, N.V., Rumyantsev, M.V., Osipenko, O.A. *Higher Education in Russia*, **2016,** 204(8-9), 15-21.
24. Vinichenko, M.V., Frolova, E.V., Kabanova, E.E., Kozyrev, M.S., Evstratova, T.A. The youth employment problems. *Journal of Advanced Research in Law and Economics*, **2016**, *7(2)*, 378-387.
25. Vinichenko, M.V., Kirillov, A.V., Frolova, E.V., Kaurova, O.V., Makushkin, S.A. Monitoring of working conditions and the nature of their influence on health of students and academic staff. International *Journal of Environmental and Science Education*, **2016a**, *11(11)*, 4564-4577.
26. Vinichenko, M.V., Makushkin, S.A., Melnichuk, A.V., Frolova, E.V., Kurbakova, S.N. Student employment during college studies and after career start. *International Review of Management and Marketing*, **2016b**, *6(S5)*, 23-29.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

27. Vonog, V.V., Yarotskaya, L.V. *Bulletin of the KSPU named after V.P. Astafieva*, **2017**, *40(2)*, 56-62.
28. Zyalaeva, R.G. *Integration of Professional Education, Science and Business: Experience, Problems and Perspectives: Collection of Papers. of Interregional Scientific-Practical Conference*, Cheboksary, Russian Federation, **2014**, 50-53.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

***Table 1**. Description of generalized labor functions included in the professional standard "Architect", according to the levels of education*

Code	Generalized labor function	Qualification level	Requirements for education and learning
A	Development of individual architectural and space-planning solutions for the architectural section of design documentation for capital construction facilities	5	Secondary vocational education – programs for training middle-level specialists.
B	Development of the architectural section of design documentation for capital construction facilities	6	Higher Education – Bachelor's Degree
C	Management of the process of architectural and construction design of facilities and types of work associated with the implementation of capital construction facilities.	7	Higher education – specialty and master's degree. Additional vocational education – programs of professional development at least once in five years.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

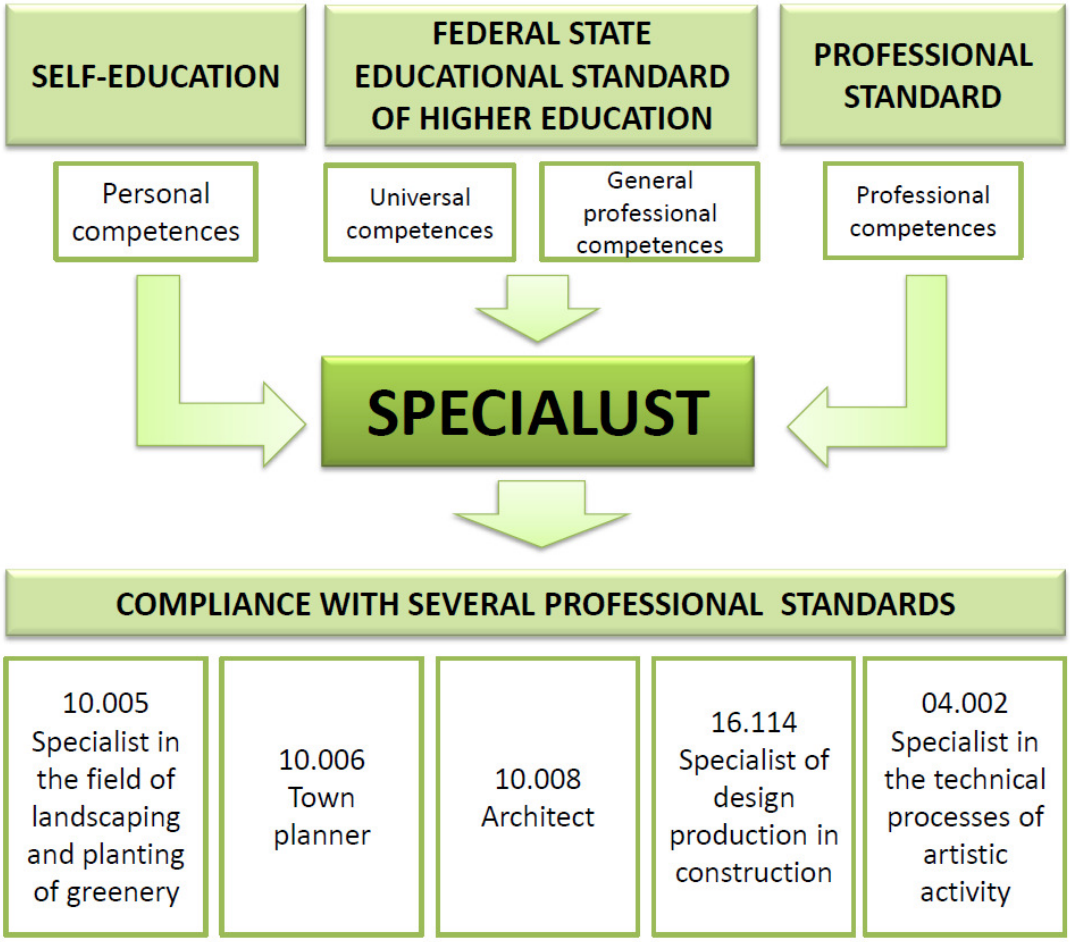


***Figure 1**. Process of professional formation of a specialist*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ISOTERMA DE LANGMUIR: CONSIDERAÇÕES CINÉTICAS E DE EQUILÍBRIO

LANGMUIR ISOTHERM: KINETIC AND EQUILIBRIUM CONSIDERATIONS

CASTRO, Douglas Azevedo[1]; PEREIRA, Douglas Henrique[2]; LEAL, Paulo Vitor Brandão*[3]

[1,2] Colegiado de Química, Universidade Federal do Tocantins, Campus de Gurupi, 77410-530, Gurupi – Tocantins, Brasil

[3] Instituto de Engenharia, Ciência e Tecnologia da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri,39.440-000, Janaúba, MG

** Autor correspondente*
e-mail: paulo.leal@ufvjm.edu.br

Received 2 August 2018; received in revised form 15 September 2018; accepted 26 September 2018

RESUMO

Processos adsortivos apresentam crescentes aplicações nas mais diversas matrizes de sistemas. Neste cenário a isoterma de Langmuir tem destaque e importância. Apesar de ser o modelo de isoterma mais simples, na maioria dos estudos de adsorção, o mesmo é considerado, uma vez que é a base para a formulação de quase todos os outros modelos propostos na literaturatura. Desse modo o modelo de Langmuir é aplicado nos mais diversos tipos de processos de adsorção, tais como: remoção de íons metálicos, compostos orgânicos, poluentes gerados pela agricultura, corantes, efluentes de mineração, dentre outros. Os tipos de adsorventes também são os mais variados com destaque para: adsorventes alternativos, carvão ativado e zeólitas. Assim, a avaliação da isoterma de Langmuir, sua origem e aproximações é de extrema relevancia para os alunos e professores que se interessam e/ou trabalham com processos adsortivos. A isoterma foi inicialmente publicada em 1916 e parte de conceitos simples para sua formulação. Assim, o presente trabalho apresenta deduções da equação de Langmuir de duas maneiras: (a) via considerações cinéticas e (b) via considerações de equilíbrio. Além disso, propõe uma avaliação da energia de Gibbs do processo e algumas formas de estimar o número de sítios de adsorção da superfície.

Palavras-chave*: Isoterma de Langmuir, Adsorção, Estudos cinéticos, Estudos de equilíbrio*

ABSTRACT

Adsorption processes present increasing applications in the most diverse matrices of systems. In this scenario the Langmuir isotherm has highlight and importance. Although it is the simplest isotherm model, in most adsorption studies it is considered, since it is the basis for the formulation of almost all other models proposed in literature. Thus the Langmuir model is applied in the most diverse types of adsorption processes, such as: removal of metallic ions, organic compounds, pollutants generated by agriculture, dyes, mining effluents, among others. The types of adsorbents are also the most varied with highlight: alternative adsorbents, activated carbon and zeolites. Thus, the Langmuir isotherm evaluation, its origin and approximations is of extreme relevance for students and teachers who are interested and / or working with adsorptive processes. The isotherm was first published in 1916 and it parts of simple concepts for its formulation. Thus, this paper presents deductions from the Langmuir equation in two ways: (a) via kinetic considerations and (b) via equilibrium considerations. In addition, it proposes an evaluation of Gibbs energy of the process and some ways of estimating the number of surface adsorption sites.

Keywords: *Langmuir isotherm model; Adsorption, Kinetic studies; Equilibrium studies*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

Geralmente, na história da humanidade, quando um indivíduo faz algo notável, seu nome fica gravado na história. Quer seu feito seja para uso imediato, como vários líderes o fizeram, quer seja no campo das ideias, cuja aplicação pode ser futura. Neste plano, do qual os cientistas fazem parte mais ativamente, quando a ideia é notavelmente diferenciada, ela pode receber o nome de seu proponente. É o caso da isoterma de adsorção de Langmuir, que no ano de 2018 completou 102 anos de sua fundamentação proposta no artigo "The constitution and fundamental properties of solids and liquids" publicado em 23 de maio de 1917 no periódico Journal of the American Chemical Society (Langmuir, 1917).

Embora a citação de seu nome seja frequentemente relacionado a isoterma, Irving Langmuir contribuiu significativamente para a ciência como um todo (Langmuir, 1917; Langmuir, 1916; Langmuir, 1916; Langmuir, 1916). Das contribuições que Langmuir proporcionou podemos destacar: a) novos tipos de bombas a vácuo (Langmuir, 1916 (a)), b) a descoberta do hidrogênio atômico, que levou diretamente à invenção do maçarico de hidrogênio (Langmuir, 1916(b)), c) ponto de fusão do tungstênio, dado valioso para a indústria na época (Langmuir, 1916 (c)).Essas descobertas, entre outras, foram realizadas quando estudava lâmpadas incandescentes.

Outro fato interessante sobre a trajetória de Langmuir é a contribuição dada para a teoria atômica e, consequentemente, para a teoria de Lewis. A contribuição para a teoria de Lewis foi significativa, sendo denominada de regra do Octeto, embora seja credita a Lewis e Kossel como citado por Gugliotti M. "Nos livros didáticos, a teoria (ou regra) do octeto tem como autores Lewis e Kossel. Porém, a contribuição deste último é questionável" (Gugliotti, 2001).

Langmuir também teve um papel significativo em épocas difíceis como na primeira e segunda guerras mundiais. Durante esses períodos contribuiu de diferentes formas, como para a melhoria de torpedos utilizando sonares, estudos sobre a fixação de nitrogênio em explosivos, desenvolvimento de máscaras de gáses, entre outros (Gugliotti, 2001).

Os estudos de Langmuir sobre os fenômenos de adsorção foram os que deram a base de seu prêmio Nobel em 1932 sobre química de superfície. Seu nome é lembrado pela isoterma que é uma expressão simples, como do feitio de Langmuir, mas carrega tanta informação e aplicabilidade que até hoje é um dos modelos de isoterma mais utilizado.

O modelo de isoterma de Langmuir é frequentemente usado para descrever as isotermas de equilíbrio de adsorção em superfícies homogêneas (Ghaemy, 2014). Esse modelo de isoterma representa a distribuição de equilíbrio de adsorvato entre as fases gasosas, líquida e sólida e foi originalmente desenvolvido para descrever a adsorção entre sólidos e gases. A isoterma é amplamente empregada nos mais diferentes sistemas sendo fundamentada nas seguintes hipóteses: (1) monocamada de adsorção; (2) a adsorção ocorre em locais homogêneos específicos sobre o adsorvente; (3) a energia de adsorção é constante e não depende do grau de ocupação dos centros ativos de um adsorvente; (4) o adsorvente tem uma capacidade finita; (5) todos os sítios são idênticos e energeticamente equivalentes; (6) não há interação entre as moléculas adsorvidas em sítios vizinhos. Nesta teoria, a adsorção atinge o seu nível máximo no recobrimento de uma monocamada (Atkins, 2012; Rangabhashivam, 2014).

Por ser a isoterma de expressão mais simples, a proposição de Langmuir é frequentemente aplicada em diferentes processos de adsorção química e comparada a outros modelos de isotermas que apresentam considerações mais direcionadas a determinados sistemas, tais como: o modelo de Freundlich (Freundlich, 1906), o modelo de Sips (Sips, 1948), o modelo de Tempkim (Tempkim, 1940), o modelo de Redlich (Redlich, 1940) e o modelo de Toth (Toth, 1971). Porém, mesmo com essas considerações menos limitantes, o modelo é eficiente para elucidar diferentes sistemas, tais como: a) remoção de íons metálicos como Cromo (IV) (Dehghani, 2016), Cobre, Níquel, Chumbo entre outros (Bhatt e Shah, 2015; Gautam e Chattopadhyaya, 2016); b) eliminação de Arsênio As(III) e As(V) de água (Podder e Majumder, 2015) c) adsorção de nitratos (Ganesan, et al, 2013) d) adsorção de poluentes gerado pela agricultura (Rangabhashivam, 2014) e) remoção de compostos fenólicos de soluções aquosas em semi-coque ativado (Gao et al., 2017), f) adsorção do corante catiônico vermelho congo em microesferas de óxido de zinco (Lei, et al, 2017), g) remoção de efluentes de mineração em caulinita, carvão ativado e zeólita beta

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

(Magriotis, et al, 2014), h) adsorção de Fe (II) e Cr (VI) em carvão ativado (Maneechakr e Karnjanakon, 2017).

Desse modo, Langmuir é quase sempre ponto de partida para estudos de processos que envolvem quimissorção. Como mencionado anteriormente, uma das hipóteses adotadas por Langmuir é a independência e equivalência dos sítios de adsorção. Os afastamentos que se observam em relação à isoterma podem ser atribuídos, muitas vezes, à inexatidão dessa hipótese. Desse modo, é importante a comparação dos resultados a outros modelos que não apresentem esta consideração (Sips, 1948; Tempkim, 1940).

O grande interesse científico fica evidente pelo número expressivo de publicações que trata o assunto. Fazendo um levantamento sobre o tema na Science Direct (Science Direct, 2018) com a palavra chave *Langmuir isotherm model* encontramos um valor expressivo de resultados, aproximadamente 55165. São estudos de diversas matrizes com diferentes adsorventes e adsorvatos. Através de uma análise dos últimos seis anos (Figura 1), comprova-se a crescente citação da isoterma.

Estes dados evidenciam a grande importância da mesma para diferentes áreas, devido a interdisciplinaridade resultante da avaliação do processo de adsorção. Deste modo, apesar do crescimento anual de publicações na área de química foi possível observar que o aumento das citações relacionadas à isoterma de Langmuir são provenientes não só da química, mas de pesquisas em diversas áreas. Fato que demonstra a importância do modelo para a ciência como um todo.

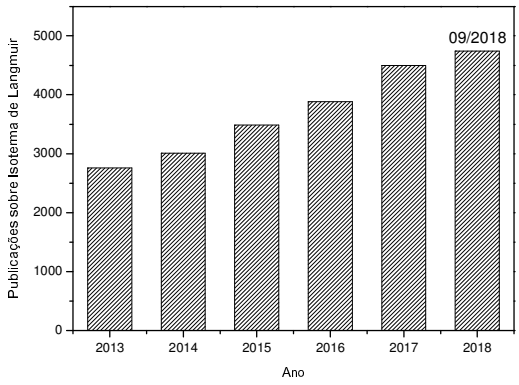


Figura 1. – A importância das Isotermas de Langmuir nos últimos anos, traduzidas pelo número de citações.

Tendo em vista a importância da Isoterma de Langmuir para a ciência o presente artigo traz considerações cinéticas e de equilíbrio das deduções da isoterma de Langmuir que pode auxiliar os alunos de graduação no entendimento do caminho traçado por Langmuir para a obtenção deste modelo.

O artigo está organizado da seguinte forma. Na seção 2 estão apresentadas diferentes deduções da equação da isoterma. Na seção 3 estão descritas formas de se estimar o número de sítios em uma superfície. Na seção 4 faz-se um estudo da espontaneidade do processo, via energia de Gibbs. Finalmente, na seção 5 as conclusões.

2 DEDUÇÕES DA ISOTERMA DE LANGMUIR

Nesta seção encontram-se duas formas de deduzir as equações da isoterma de Langmuir. Especificamente, via considerações cinéticas e de equilíbrio.

Sabe-se que, quando um gás entra em contato com um sólido haverá um equilíbrio entre as moléculas do gás e as moléculas ou átomos adsorvidos, ou seja, aquelas moléculas que estão fixadas sobre a superfície do sólido.

O equilíbrio químico depende de alguns fatores, especificamente, da estabilidade relativa do gás adsorvido com o gás livre, da temperatura do sistema (ambos, gás e superfície, embora estejam a uma mesma temperatura) e finalmente da pressão do gás sobre a superfície.

Em geral, a temperatura do sistema e a pressão do gás sobre a superfície exercem efeitos opostos na concentração da espécie adsorvida, isto é, a superfície coberta aumenta ao elevar a pressão, mas diminui se a temperatura cresce.

A isoterma de Langmuir descreve a dependência da cobertura de uma superfície por um gás adsorvido em função da pressão do gás sobre a superfície a uma temperatura fixa (Langmuir, 1917). Embora a isoterma de Langmuir seja simples, ela fornece uma boa relação de dependência entre a pressão e a dimensão da superfície de adsorção.

É comum denotar, quando se estuda isotermas de adsorção, por θ a cobertura da

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

superfície, especificamente, a saturação ou fração da quantidade de superfície ocupada pelo adsorvato. Considera-se que o máximo de adsorção atingido, ou seja o grau de recobrimento é θ = 1, que indica a ocupação de todos os sítios ativos.

2.1 Dedução via considerações de equilíbrio

Nesta seção, apresenta-se a dedução da isoterma de Langmuir, considerando que o equilíbrio do processo de adsorção é igual a outro processo de equilíbrio qualquer, exceto que o equilíbrio é entre as moléculas da fase gasosa, M_g, junto com os sítios de adsorção vazios na superfície do adsorvente, S, e as moléculas adsorvidas na superfície S–M. Para um processo de adsorção não dissociativo molecular, considera-se que a adsorção pode ser representada pela seguinte equação química.

$$S + M_g = S - M \quad (1)$$

Percebe-se que, ao considerar esta equação, supõe-se que há uma quantidade fixa de sítios na superfície de adsorção. Essa é a primeira grande hipótese da isoterma de Langmuir. Observando as concentrações dos reagentes e produto da equação (1) pode-se definir a constante de equilíbrio, equação (2),

$$K = \frac{[S-M]}{[S][M]}, \quad (2)$$

Em que, [S–M] é proporcional à superfície de cobertura das moléculas adsorvidas, isto é, proporcional a θ; [S] é proporcional ao número de sítios vazios, isto é, proporcional a 1 – θ; e [M] é proporcional a pressão do gás (P). Assim, é possível definir uma outra constante de equilíbrio, b, equação (3), tal que

$$b = \frac{\theta}{(1-\theta)P} \quad (3)$$

Que pode ser reescrita, equação (4), como:

$$\theta = \frac{bP}{1+bP} \quad (4)$$

Que é uma das formas de apresentação da isoterma de Langmuir.

Como em toda reação química, a constante de equilíbrio b depende tanto da temperatura quanto da energia de Gibbs, consequentemente, depende da mudança de entalpia do processo.

É importante ressaltar que b é uma constante independente de θ, assim a entalpia da adsorção é independente da cobertura. Esta é a segunda grande hipótese da isoterma de Langmuir.

2.2 Dedução via considerações cinéticas

O equilíbrio que pode existir entre o gás adsorvido em uma superfície e as moléculas em sua fase gasosa está em um estado dinâmico, isto é, o equilíbrio representa um estado no qual a taxa de adsorção das moléculas pela superfície é exatamente contrabalanceada pela taxa de dessorção das moléculas de volta para o estado gasoso. É possível deduzir a isoterma para o processo de adsorção simplesmente considerando e equacionando as taxas desses dois processos.

As expressões para as taxas de adsorção e dessorção são dadas a seguir.

2.2.1 Cinética da adsorção - A taxa da adsorção

A taxa de adsorção, R_{ads}, de uma molécula em uma superfície pode ser expressa da mesma forma que qualquer processo cinético. Por exemplo, quando é expressa em termos da pressão parcial da molécula do gás na fase gasosa sobre a superfície, equação (5),

$$R_{ads} = k' P^x \quad (5)$$

Em que, x é a ordem cinética que geralmente é experimental, k' é a constante de velocidade, P pressão parcial. Se a constante de velocidade k' é escrita em termos da Lei de Arrhenius, a equação cinética pode ser reescrita na forma:

$$R_{ads} = A\, e^{\frac{-E_a}{RT}} P^x \quad (6)$$

Em que, A é denominado de fator pré-exponencial que depende, dentre outros fatores, da área de contato; E_a é a energia de ativação ou de adsorção; R a constante dos gases; T a temperatura.

É muito mais instrutivo considerar os fatores envolvidos em nível molecular. Assim, a

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

taxa de adsorção é governada pela taxa de chegada das moléculas na superfície e pela proporção de moléculas incidentes que sofrem adsorção. Isto é, a expressão da taxa de adsorção, por unidade de área da superfície, como o produto entre o fluxo molecular incidente, F, e a probabilidade de aderência,S, ou seja,

Ou seja,

$$R_{ads} = S\,F \text{ moléculas m}^{-2}\text{ s}^{-1}. \quad (7)$$

O Fluxo de incidência das moléculas é dado pela equação Hertz-Knudsen (Hertz, 1882; Knudsen, 1915).

$$F = \frac{P}{\sqrt{2\pi mkT}} \quad \text{moléculas m}^{-2}\text{ s}^{-1} \quad (8)$$

Em que P é a pressão do gás (N m^{-2}), m a massa de uma molécula (kg); T a temperatura (K).

A probabilidade de aderência é claramente uma propriedade do sistema adsorvente/ substrato em consideração, mas deve situar-se na gama 0 < S < 1. Pode depender de vários fatores entre os quais a cobertura existente de espécies adsorvidas (θ) e a presença de qualquer barreira de ativação à absorção. Em geral, portanto,

$$S = f(\theta)e^{\frac{-E_a}{RT}} \quad (9)$$

Em que f(θ) é alguma, e ainda indeterminada, função da cobertura superficial existente das espécies adsorvidas. Combinando as equações (8) e (9) resulta a seguinte expressão para a taxa de adsorção:

$$R_{ads} = \frac{f(\theta)P}{\sqrt{2\pi mkT}}\, e^{\frac{-E_a}{RT}} \quad (10)$$

É importante observar que:

1. A equação (10) indica que se espera que a taxa de adsorção seja de primeira ordem em relação à pressão parcial das moléculas na fase gasosa acima da superfície.
2. Deve ser reconhecido que a energia de ativação para a adsorção pode ser ela própria dependente da cobertura superficial, isto é, $E_a = E(\theta)$.
3. Se pressupõe ainda que a probabilidade de aderência é diretamente proporcional à concentração de sítios de superfície livres, que seria uma primeira aproximação razoável para adsorção não dissociativa, então f(θ) é proporcional a (1 - θ); Em que, neste caso, θ é a fração de sítios que estão ocupados isto é, a definição de cobertura de superfície de Langmuir.

2.2.1 Estimativa de coberturas de superfície resultantes da exposição ao gás

Se uma superfície inicialmente limpa é exposta a um gás sob pressão de modo que a taxa de dessorção é muito lenta, então a cobertura de moléculas adsorvidas pode ser inicialmente estimada simplesmente pela consideração da cinética de adsorção.

Como observado acima, a taxa de adsorção é dada por:

$$R_{ads} = S\,F \quad (11)$$

isto é,

$$\frac{dN_{ads}}{dt} = S\,F \quad (12)$$

em que N_{ads} é o número de espécies adsorvidas por unidade de área da superfície. Em geral, esta equação deve ser integrada para obter uma expressão para N_{ads}, uma vez que a probabilidade de aderência é a cobertura e, portanto também é dependente o tempo.

No entanto, se assume que a probabilidade de aderência é essencialmente constante, que é uma aproximação razoável para coberturas relativamente baixas, então esta integração simplesmente produz:

$$N_{ads} = S\,F\,t \quad (13)$$

2.2.2 O processo de dessorção

Uma espécie adsorvida presente numa superfície a baixas temperaturas pode permanecer quase indefinidamente nesse estado. À medida que a temperatura do substrato é elevada, no entanto, chegará a um ponto em que a energia térmica da espécie adsorvida é tal que pode ocorrer uma das seguintes hipóteses:

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

1. Uma espécie molecular pode decompor-se para produzir produtos em fase gasosa ou outras espécies de superfície.
2. Um adsorvato atômico pode reagir com o substrato para produzir um composto de superfície específico, ou difundir no volume do sólido subjacente.
3. A espécie pode dessorver a partir da superfície e retornar para a fase gasosa. A última destas opções é o processo de dessorção. Na ausência de decomposição, as espécies de dessorção serão geralmente as mesmas que as originalmente adsorvidas, mas este não é necessariamente o caso.

2.2.3 Cinética de dessorção

A taxa de dessorção, R_{des}, de um adsorvato a partir de uma superfície pode ser expressa na forma geral:

$$R_{des} = k\, N^{x} \qquad (14)$$

Em que x é a ordem cinética de dessorção, geralmente experimental, k a constante de velocidade para o processo de dessorção, N concentração superficial de espécies adsorvidas.

A constante de velocidade para o processo de dessorção pode ser expressa numa forma de Arrhenius, assim, a taxa de dessorção é reescrita como

$$R_{des} = A\, e^{\frac{-E_a}{RT}}\, N^{x} \qquad (15)$$

Em que A é o fator pré-exponencial que depende, dentre outros fatores, da área de contato, isto também pode ser considerado como a "frequência de tentativa", v, para superar a barreira de dessorção, E^{des} é a energia de dessorção, R a constante dos gases, T a temperatura.

Tem-se então a seguinte expressão geral para a taxa de dessorção

$$R_{des} = -\frac{dN}{dt} = \nu\, e^{\frac{-E_a^{des}}{RT}}\, N^{x} \qquad (16)$$

No caso particular da adsorção molecular simples, o fator pré-exponencial/frequência (v) pode também ser considerado como sendo a frequência de vibração da ligação entre a molécula e o substrato. Essa suposição é válida porque cada vez que esta ligação é esticada durante o curso de um ciclo vibracional pode ser considerada uma tentativa de romper a ligação e, portanto, uma tentativa de dessorção. A vibração molecular nesse caso pode ser calculada usando a frequência vibracional deduzida pelo oscilador harmônico desde de que se conheça as constante de força do sistema. Outra maneira de se obter v é utilizar cálculos teóricos em níveis acurados e assim obter o valor da frequência vibracional.

Tomando as equações (10) e (16) obtém-se a relação

$$\frac{Pf(\theta)}{g(\theta)} = C(T) \qquad (17)$$

em que f(θ) e g(θ) contêm os fatores de dependência pré-exponencial das taxas de cobertura superficial de adsorção e dessorção, respectivamente, e todos os outros fatores foram levados para o lado direito para dar uma característica "constante" dependente da temperatura deste processo de adsorção particular, e denominado C(T).

A esta altura, é necessário fazer certas hipóteses simplificadoras e a primeira é um dos pressupostos fundamentais da isoterma de Langmuir.

A adsorção ocorre apenas em locais específicos localizados na superfície e a cobertura de saturação corresponde à ocupação completa destes locais.

Considerando um processo de adsorção molecular reversível (1),

$$S + M_g = S - M$$

S representa um local de superfície vazio e S-M o complexo de adsorção.

Nestas circunstâncias, com θ representando a fração de sítios ocupados na situação de equilíbrio, é razoável supor dependências de cobertura para taxas dos dois processos:

a) Adsorção: f(θ) = c(1 - θ) isto é, proporcional à fração de sítios que estão

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

desocupados.

b) Dessorção: g(θ) = c'θ isto é, proporcional à fração de sítios que estão ocupados por moléculas adsorvidas.

Essas dependências de cobertura são exatamente o que seria previsto, observando que os processos direto e inverso são partes de reações elementares, neste caso decorre da teoria cinética química padrão que diz:

O processo de adsorção exibirá cinética dependente da concentração de sítios ativos disponíveis e o processo de dessorção exibirá cinética dependente da concentração das moléculas adsorvidas.

Substituindo as expressões para f(θ) e g(θ), descritas acima, na equação (17)

$$\frac{P(1-\theta)}{\theta} = B(T)\ , \tag{18}$$

$$B(T) = \frac{C'}{C}\, C(T) \tag{19}$$

que reorganizada fornece a isoterma de Langmuir, equação (4), conforme apresentada anteriormente,

$$\theta = \frac{bP}{1+bP} \tag{4}$$

em que b = 1 /B(T) é uma função da temperatura e contém termos da forma

$$b = \cdots\ e^{\frac{E_a^{des} - E_a^{ads}}{RT}} = \cdots\ e^{\frac{-\Delta H_{ads}}{RT}} \tag{20}$$

Consequentemente, b só pode ser considerada como uma constante em relação à cobertura se a entalpia de adsorção for ela própria independente da cobertura, esta é a segunda suposição principal da isoterma de Langmuir.

2.2.4 Uma forma mais geral

As taxas de adsorção e dessorção podem ser expressas nas seguintes formas, em que n = 1 para a adsorção molecular e n = 2 para adsorção dissociativa de uma molécula homonuclear diatômica,

$$R_{ads} = S\,F = \frac{P}{\sqrt{2\pi mkT}}\, c(1-\theta)^n\, e^{\frac{-E_a}{RT}} \tag{21}$$

em que F é o fluxo molecular, S a probabilidade de aderência, P a pressão, m a massa molecular, k a constante de Boltzmann, T a temperatura, σ = c'/c fator estérico, θ taxa de recobrimento, E_a energia de ativação para a adsorção, E_{des} a energia para dessorção, R constante dos gases, k' constante de dessorção, N número de sítios de adsorção por unidade de área, v, fator de dessorção de Arrhenius.

É interessante mencionar que a isoterma pode assumir a seguinte forma

$$R_{des} = k'(\theta N)^n = \nu\, e^{\frac{-E_a^{des}}{RT}}\, c'\,(\theta N)^n \tag{22}$$

em que n = 1 para a adsorção molecular e n = 2 para adsorção dissociativa de uma molécula homonuclear diatomica e

$$\theta = \frac{(bP)^{\frac{1}{n}}}{1+(bP)^{\frac{1}{n}}} \tag{23}$$

Para mais detalhes recomenda-se (Masel, 1996).

3 ESTIMATIVAS PARA O NÚMERO DE SÍTIOS EM UMA SUPERFÍCIE

Nesta seção estão descritas algumas formas de computar o número de sítios em uma superfície. Para fazer as considerações iremos utilizar um carvão ativado comercial e sua área. O número de sítios será computado de duas formas sendo a primeira, usando a molécula de nitrogênio como referência e fórmulas de geometria elementar e a segunda é através de resultados experimentais obtidos da equação linearizada da isoterma de Langmuir

A Figura 2 apresenta uma investigação da morfologia de um carvão ativado comercial (Cromoline Química Fina Ltda) a partir da avaliação do material por microscopia eletrônica de varredura (MEV), utilizando um microscópio eletrônico de varredura acoplado a um espectrômetro de energia dispersiva (JSM-5410 - JEOL). A partir das micrografias obtidas, apresentadas em ordem crescente de ampliação, é possível observar que a superfície do carvão ativado é irregular e bastante porosa fato que contribui com a elevada área superficial deste material.

a)

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

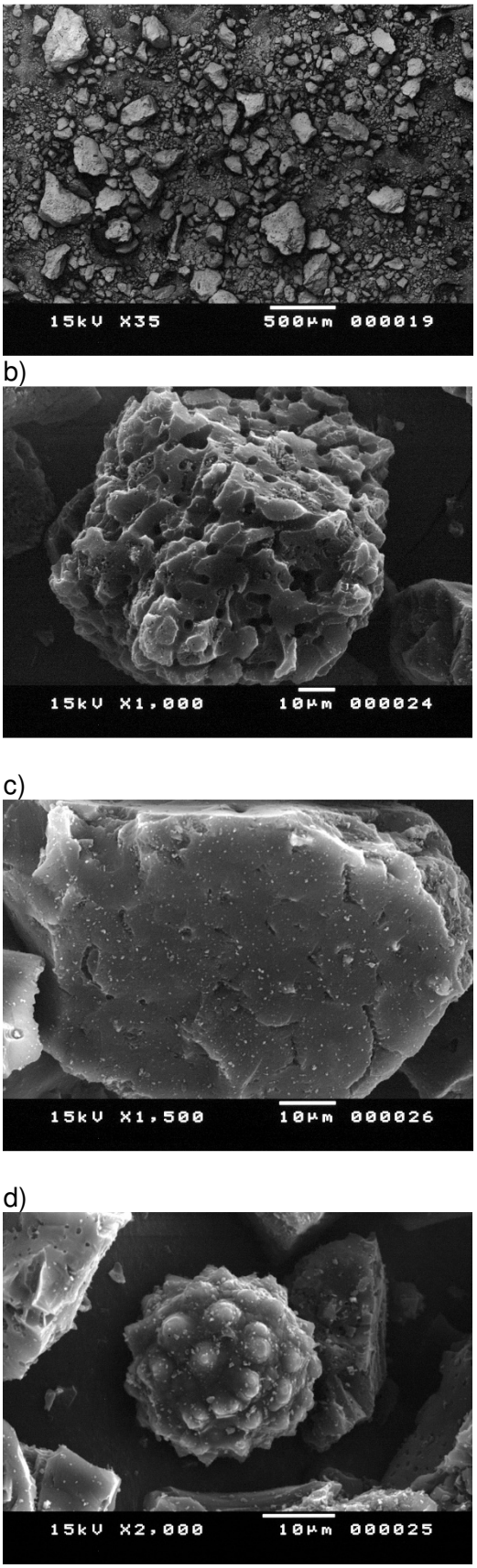


Figura 2. – Micrografia do carvão ativado com ampliação de: (A) 200 vezes; (B)1000 vezes; (C) 1500 vezes e (D) 2000 vezes

Para proceder com o teste, considere um adsorvente cuja área superficial é de A = 28,196 m^2/g, com um diâmetro de poro de dp = 3,669nm. Como referência, toma-se a molécula de nitrogênio N_2 que tem diâmetro dm = 0,368 nm.

Por simplicidade, considera-se que a superfície seja rearranjada de forma que os poros nela contida forme um único cilindro circular reto. Dessa forma, pode-se usar, para o cálculo, uma fórmula mais simples, especificamente, a área superficial interna dos poros que é dada por

$$A = 2\pi rh \tag{24}$$

em que a área A é dada em termos do perímetro (2πr) da base do poro multiplicada pela altura h do poro, sendo r o raio do poro. No momento, o interesse é descobrir o comprimento h, então convertendo os dados acima para centímetros e substituindo em (24) obtém-se

$$h = \frac{A}{2\pi r} = \frac{281960}{\pi\, 3{,}669\, x\, 10^{-9}} = 2{,}44619\, x\, 10^{11} \tag{25}$$

Estima-se o número de moléculas de nitrogênio, em uma única camada, na base do cilindro por

$$m = \frac{2\pi r}{dm} \tag{26}$$

em que r é o raio do poro, dm é o diâmetro da molécula de nitrogênio. Basicamente a estimativa é de quantas moléculas podem ser enfileiradas de maneira a ficarem encostadas em um círculo de raio r.

Estima-se a quantidade de moléculas de nitrogênio empilhadas e alinhadas que cabem dentro do poro por

n=h/dm.

No total, para este exemplo, o total de sítios é igual a

$$Sit = nm = 2{,}08205\, x\, 10^{20} \tag{27}$$

Porém, o número de sítios estimado, E, por centímetro quadrado é

$$E = \frac{Sit}{A} = 7{,}38422\, x\, 10^{14} \tag{28}$$

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Outra forma de computar o número de sítios é através de resultados experimentais obtidos da equação linearizada da isoterma de Langmuir (8) (Mcquarrie e Simon, 1997).

$$\frac{P}{V} = \frac{1}{V_m K} + \frac{P}{V_m} \quad (29)$$

Tomando como exemplo que o volume da monocamada encontrado seja de 3,96 x10^{-8} m^3 e sabemos que a 0,00 ºC e 1 atm, 1 mol de gás ocupa 2,24 x 10^{-2} m^3, sabe-se que o número de mols do gás no volume V_m é 1,77 x 10^{-6} mols.

Como um mol de moléculas é 6,022 x10^{23} então

(6,022 x10^{23} mol^{-1}) (1,77 x10^{-6} mols) = 1,06 x10^{18} moléculas.

Pela aproximação da isoterma de Langmuir cada molécula ocupa um sítio logo temos que na superfície temos 1,06 x10^{18} sítios. Considerando que o material em questão possui uma área de 28,196 m^2 então o número de sítios por metro quadrado seria:

$$E = \frac{1{,}06\ x\ 10^{18}\ moléculas}{28{,}196\ m^2} = 3{,}75\ x\ 10^{16}\ moléculas\ m^{-2}$$

4 ESTIMATIVAS PARA O NÚMERO DE SÍTIOS EM UMA SUPERFÍCIECÁLCULO DA ENERGIA DE GIBBS A PARTIR DA CONSTANTE DE EQUILÍBRIO DA EQUAÇÃO DE LANGMUIR

Um dos pontos chave nos estudos do processo de adsorção é que através da constante de equilíbrio, derivada dos diversos modelos de isoterma, podemos estimar os valores da energia de Gibbs (ΔGº), entalpia (ΔHº) e entropia (ΔSº).

A espontaneidade de um processo está relacionada à variação no valor da energia de Gibbs (ΔGº). O valor de ΔGº indica o grau de espontaneidade do processo de adsorção, em que, quanto maior o valor negativo de ΔGº mais espontâneo é o processo e logo mais favorável é a adsorção.

A correlação existente entre a constante de equilíbrio e ΔGº, ΔHº e ΔSº podem ser determinadas a partir das equações termodinâmicas. A relação existente entre a energia de Gibbs, entalpia e entropia pode ser expressa por:

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T\Delta S^0 \quad (30)$$

A espontaneidade está associada à energia de Gibbs, pois essa propriedade possui contribuições tanto da entalpia quanto da entropia, conforme a equação 30.

No equilíbrio a energia de Gibbs pode ser correlacionada à constante de equilíbrio pela equação:

$$\ln K = \frac{-\Delta G^0}{RT} \quad (31)$$

em que K é a constante de equilíbrio sem unidade, R a constante real dos gases com o valor de 8,314 J K^{-1} mol^{-1} e T a temperatura em Kelvin.

Substituindo a equação 30 na 31 resulta em:

$$\ln K = \frac{-\Delta H^0}{RT} + \frac{\Delta S^0}{R} \quad (32)$$

A partir da equação 32 é possível plotar ln K por 1/T e determinar a entalpia através do coeficiente angular e a entropia pelo coeficiente linear do gráfico. Os valores encontrados são importantes para caracterizar se a adsorção é física ou química, identificar se o processo é endotérmico ou exotérmico e saber se a adsorção é entropicamente favorável.

Como se baseia em interação intermolecular, a fisissorção não é específica e a entalpia de adsorção apresenta valores de energia na faixa de 20 kJ mol^{-1}. Na quimissorção a entalpia de adsorção é muito maior que a da adsorção física e os valores de energia liberada no processo estão na faixa de 200 kJ mol^{-1}.[8]

Uma alternativa para verificar, por meio dos dados da isoterma de adsorção, se o processo é favorável ou não é através da análise do fator de separação (R_L), calculado a partir da isoterma de Langmuir, pela equação 33.

$$R_l = \frac{1}{1+K_L C_0} \quad (33)$$

em que o fator de separação (R_L) apresenta as seguintes informações: $R_L > 1$ o processo não é favorável; $R_L = 1$ o processo é

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

linear; $R_L = 0$ o processo é irreversível e $0 < R_L < 1$ o processo é favorável.

CONCLUSÕES

O trabalho apresenta a isoterma de Langmuir desenvolvida em 1916, que é ponto de partida para os demais modelos que descrevem processos adsortivos. O modelo da isoterma é baseado em hipóteses (aproximações) simples, mas que descreve bem diversos sistemas de interesse, mostrando assim sua aplicação. É possível obter a equação de Langmuir tanto por considerações cinéticas quanto via condições de equilíbrio. Além das aplicações e importância do modelo, uma vez calculada a constante de equilíbrio pode-se obter os valores de energia de Gibbs ΔG^o, entalpia ΔH^o e entropia ΔS^o facilitando assim o entendimento do processo de adsorção. Assim, conclui-se que o modelo da isoterma de Langmuir possui uma importância significativa, sendo a chave para muitos estudos.

AGRADECIMENTOS

O autor D. H. Pereira agradece o suporte financeiro do CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), processo n. 446651/2014-1, a CAPES e a Universidade federal do Tocantins-UFT, pois o desenvolvimento desta pesquisa contou com benefícios do Programa Novos Pesquisadores da UFT (PROPESQ/UFT). O autor P. V. B. Leal agradece a Rísia Papini Magriotis (DEMIN/UFMG) pela análise de Microscopia Eletrônica de Varredura.

REFERÊNCIAS:

1. Atkins, P. J. Físico-Química. 8th ed.; Rio de Janeiro: LTC, 2012.

2. Bhatt, R. R.; Shah, B. A. *Arabian Journal of Chemistry*, **2015**, 8, p. 414-426.

3. Dehghani, M. H. et al. *Journal of Molecular Liquids,* **2016,** 215, p. 671-679.

4. Freundlich, H. M. F. *The Journal of Physical Chemistry,* **1906**, 57, p. 385-471.

5. Ganesan, P. et al. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers,* **2013**, 44, p. 808-814

6. Gao X. et al. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, **2017**, 102, p. 142-150.

7. Gautam, R. K.; Chattopadhyaya, M. C. Edicaoa *Nanomaterials for Wastewater Remediation*, Chapter 5 79-109,2016.

8. Ghaemy, A. M. M. *Carbohydrate Polymers*, 2014, 108, p. 206-215.

9. Gugliotti, M. *Química Nova*, **2001**, 24, p. 568-572.

10. Hertz, H. *Annual Review of Physical Chemistry,* 1882, 17, p. 177-200.

11. Horsfall, M.; Spiff, A. I. *Acta Chimica Slovenica*, **2004**, 52, p. 174-181.

12. Knudsen, M. *Annalen der Physik,* **1915***,* 47, p. 697-708.

13. Langmuir, I. *Journal of the American Chemical Society*, **1917**, 39, p. 1848-1906.

14. Langmuir, I. *Physical Review*, **1916**, 8, p. 8-51(a). Langmuir, I. *Journal of the Franklin Institute*, **1916**, 182, p. 404-405 (b). Langmuir, I. *Journal of the Franklin Institute*, **1916**, 181, p. 426 (c).

15. Lei, C. et al. *Journal of Colloid and Interface Science*, **2017**, 490, p. 242-251.

16. Magriotis, Z. M. et al. *Applied Clay Science*, **2014**, 91-92, p. 55-62.

17. Maneechakr, O.; Karnjanakon, S. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, **2017**, 106, p. 104-112.

18. Masel, R. *Principles of Adsorption and Reaction on Solid Surfaces.* Wiley Interscience.1996.

19. Mcquarrie, D. A.; AND Simon, J. D.; *Physical Chemistry: A Molecular Approach,* University Science Books. 1997.

20. Podder, M.S.; Majumder, C.B.; *Journal of Molecular Liquids*, **2015**, 212, p. 382-404.

21. Rangabhashivam, S. et al. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, **2014**, 2, p. 398-414.

22. Redlich, O.; Peterson, D.L. *The Journal of Physical Chemistry*, **1959**, 63, p. 1024-1026.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

23. SCIENCE DIRECT, http://www.sciencedirect.com, acessada em setembro de 2018.

24. Sips, R. *The Journal of Physical Chemistry,* **1948**, 16, p. 490-495.

25. Tempkin, M. I.; V. Pyzhev, V. *Acta physicochimica U.R.S.S.* **1940**, 12, p. 327-356.

26. Toth, J.; A*cta Chimica Academiae Scientarium Hungaricae,* **1971***,* 69, p. 311-317.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

QUALIDADE DE PÓLEN APÍCOLA DESIDRATADO

DEHYDRATED APICULTURE POLLEN QUALITY

SILVA, Elen Vanessa Costa da [1*]; REIS, Igor Fernando de Araújo[1]; ALMEIDA, Leandro das Neves Tolosa de[1]; PRAZERES, Alan Reis dos[1]; SILVA; Josyane Brasil da[1]; OLIVEIRA, Andrey Carlos do Sacramento de[2]

[1] Universidade do Estado do Pará, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Tv. Eneas Pinheiro 2626, cep 66.095-100, Belém – PA, Brasil. (fone: +55 91 981140062)

[2] Universidade Federal do Pará, Br Km 62, Castanhal, PA, Brasil.

** Autor correspondente*
e-mail: elen.vanessa@uepa.br

Received 11 September 2018; received in revised form 18 October 2018; accepted 22 October 2018

RESUMO

O pólen das flores é recolhido pelas abelhas, posteriormente aglutinado e transportado para a colmeia, onde é colocado nos alvéolos dos favos de mel. Devido o aumento no consumo de produtos naturais, observou-se uma crescente utilização e comercialização do pólen apícola, justificando a necessidade de um maior controle de qualidade quanto às características físico-químicas e microbiológicas desse produto. Desta forma, a pesquisa objetivou determinar as características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais de quatro marcas de pólen desidratado comercializadas em casas de produtos naturais em diferentes pontos da cidade de Belém-Pará. Foram realizadas as análises físico-quimicas (umidade, cinzas, lipídios, proteínas, pH, acidez livre, açucares total), microbiológicas (Bactérias aeróbias mesófilas, Fungos e leveduras, Coliformes a 45°, *Salmonella sp* e *Staphylococcus aureus)* e sensorial. Os resultados obtidos encontraram-se dentro dos parâmetros de qualidade permitidos pela legislação brasileira para pólen desidratado. Quanto a análise microbiológica, todas as marcas apresentaram ausência de *Staphylococus aureus* e *Salmonella spp*. Para a análise sensorial, a marca C apresentou melhor resultado tanto para sabor quanto para aroma, confirmando a qualidade do pólen desidratado comercializado em Belém-Pa.

Palavras-Chaves: *apicultura; proteína; legislação; microbiológica; sensorial.*

ABSTRACT

Due to the increase in the consumption of natural products, there has been a growing use and commercialization of bee pollen, thus, the need for a greater quality control regarding the physical-chemical and microbiological characteristics of this product is justified. In this way, the research aimed to determine the physical-chemical, microbiological and sensorial characteristics of four brands of dehydrated pollen, marketed in natural products houses in different parts of the city of Belém-Pará. Microbiological (aerobic mesophilic bacteria, fungi and yeasts, Coliformes at 45°, *Salmonella* sp and *Staphylococcus aureus*) and sensorial analyzes were carried out in the physicochemical analyzes (moisture, ashes, lipids, proteins, pH, free acidity, total sugars). The results obtained were within the parameters of quality allowed by the Brazilian legislation for dehydrated pollen. Regarding the microbiological analysis, all brands showed absence of *Staphylococus aureus* and *Salmonella* spp. For the sensorial analysis, the C mark presented better results for both flavor and aroma, confirming the quality of the dehydrated pollen commercialized in Belém-Pa.

Keywords: *apiculture; protein; legislation; microbiological; sensorial*.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUCTION

Bee pollen is the result of the pollen agglutination of flowers by worker bees, involving nectar and its salivary substances, which is collected at the entrance of the hive (BRASIL, 2001).

The commercial production of pollen has gained the attention of beekeepers in several countries with bee potential. China, USA, and Japan are the main importers and consumers. Spain, China, Australia, Argentina, the world's largest producers (ESTEVINHO *et al*., 2012).

With increasing consumption of natural products, pollen has been used and marketed more frequently, increasing the need for quality control of physico-chemical and microbiological characteristics. In Brazil, the pollen legislation is incipient, since it indicates the limits, but does not stipulate the methods of analysis, so the quality control of bee pollen requires standardization of methods (MURADIAN, 2009).

The chemical and nutritional composition is variable and depends on the floral origin (MELO et al., 2009). Pollen must meet the quality and certification criteria before marketing. Apolar pollen has been prominent both because it contains nutritional substances such as carbohydrates, proteins, amino acids, lipids, vitamins, minerals and micronutrient traits, as well as its therapeutic properties, such as antioxidant activity (SOMERVILLE, 2005; ALMARAZ-ABARCA *et al*., 2007) and is one of the few foods that has all the essential amino acids (ESTEVINHO *et al*., 2012), such as lysine, tryptophan, histidine, leucine, isoleucine, methionine, phenylalanine, glutamic acid, arginine, cystine, trionine, valine RIBEIRO *et al*., 2007), in addition to carotenoids, flavonoids and phytosterols being the reason for their use as alternative food and / or food supplement.

The aim of this study was to evaluate the physicochemical composition, the microbiological and sensorial quality of four samples of dehydrated pollen commercialized in the region of Belém, Pará.

MATERIAL AND METHODS

The samples of bee pollen used in the study came from four commercial establishments of natural products located in different points of Belém-PA. The pollen samples were named as samples A1, A2, A3, A4 for each brand and taken to the Food Laboratory of the State University of Pará (UEPA).

Chemical and physical methods for analysis of dehydrated pollen (moisture, protein, lipids, ash (fixed mineral residue), ph, determination of reducing sugars (air) and total sugars, titratable acidity, water activity (aw) followed the Instituto Adolfo Lutz (2005), and the methods described in Normative Instruction N°. 3 of January 19, 2001 approving the Technical Regulations on the Identity and Quality of Apitoxin, Bee Wax, Royal Jelly, Lyophilized Royal Jelly, Bee Pollen, Pollen Desiccated Beekeeping, Propolis and Propolis Extract, (BRASIL, 2001).

Humidity: based on the weight loss of the sample by gravimetric method, subjecting the sample in an oven with circulation and renewal of air at a temperature of 105 ° C, until obtaining constant weight.

Ashes: the sample was charred until smoke cessation ceased and then calcined in muffle at 550 ° C until constant weight was obtained.

Lipids**:** was obtained by the direct extraction method, using the Soxhlet type extractor, using n-hexane as the solvent.

Proteins: based on the determination of total nitrogen and was conducted according to the micro-Kjeldahl digestion method, where the existing nitrogen is transformed into ammonia, using the empirical factor 6,25.

Aw: was performed on AQUALAB model 4TEV water activity analyzer.

Acidity: It was carried out by titration using as indicator phenolphthalein solution and titration with 0.1 M sodium hydroxide solution until pink.

Reducing and Total Sugars**:** They were made through the titration method with solutions of Fehling A and B, according to AOAC (1997), method n ° 920.183b.

Due to the lack of specific microbiological parameters for bee pollen in the Technical Regulation on Food Microbiological Standards of ANVISA (BRASIL, 2001), the microorganisms related to similar food groups (group 10, flours, pasta, bakery, processed and packaged, and the like, including granola and unpactised cereal mix, with or without additives and the like).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

The four brands of dehydrated bee pollen were submitted to analyzes of mesophilic aerobic bacteria, fungi and yeasts, Coliforms at 45 °, *Salmonella* sp and *Staphylococcus aureus* (BRASIL, 2003).

The hedonic scale acceptance test was performed for the aroma and flavor attributes for the four brands of dehydrated pollen according to the Adolfo Lutz Institute (2005).

The results of the physical-chemical analyzes were evaluated through the mean analysis, standard deviation, variance (ANOVA), at a significance level of 5% and Tukey test for comparison between means.

RESULTS AND DISCUSSION:

The results of the physico-chemical characteristics of the four brands of pollen marketed in Belém (Tab. 2) are in accordance with the parameters required by the Brazilian legislation (2001). From the statistical analysis, it was observed that the samples presented significant difference for the protein, total sugars and free acidity analyzes at the level of 5%.

The analysis of moisture in samples A, B, C and D was within the parameters required by the legislation that is of a maximum of 4% and did not present differences among themselves at the level of 5%, this fact is probably due to the correct process drying (time and temperature) during the processing and storage (closed packages) of the bee pollen during the commercialization stages. These results were similar to the values found by Oliveira (2006) when analyzing samples collected in São Paulo where they found values from 2.5 to 3.5% for dehydrated pollen samples. In the work of Carpes, (2008) that evaluated the pollen of the southern region of Brazil, the moisture content ranged from 1.69% to 7.84%, and 53% of the samples were submitted under brazilian legislation.

The Brazilian legislation establishes for ashes values of maximum 4% m / m dry basis for pollen, being the value found in this work for samples A, B, C and D within the standards established by the legislation of which the same did not differ at a level of 5%. Indicating that there were no manipulation failures and the pollen did not present content of vegetal residues, dust, propolis and fragments of bees (legs and wings). Melo *et al*. (2009) found an average ash value of 3.08% in samples of dehydrated bee pollen. Azevedo *et. al*. (2009) analyzing samples of pollen from Ceara found value between 3.0 and 3.6% for ash. Martins (2010) found 1.33 to 4.13 g / 100g for ash in samples of bee pollen from all Brazilian states.

The values found in this work for protein analysis are within the standards required by Brazilian law, with values varying between 12.38% and 23.57%, differing among them at the 5% level. Pollen is one of the few foods that contains all the essential amino acids that the organism alone can not synthesize (LENGLER, 2002).

This work found values similar to those of Martins (2010), which found 12.28 to 27.07 g / 100g for proteins in samples of bee pollen among all Brazilian states. The work of Carpes (2008) that evaluated the pollen of the southern region of Brazil, the protein content ranged from 15.04 to 27.69%.

The values found in this study average between 15.49% and 32.40%, being within the standards of the legislation (Brazil, 2001), differentiating each other at the level of 5%. A, B, C and D obtained different results according to tukey test. This difference can be related to the fact that the bee mixes nectar to the pollen at the time of collection, raising its sugar content.

This work found approximate values for the work of Marchini *et al*. (2006) analyzing samples of pollen from Piracicaba, found a mean value of total sugar of 28.4% and lower than the results found by Arruda (2009), who found a mean value of 64, 80 ± 0,18 for dehydrated bee pollen collected in the Atlantic Forest Zone, Ribeira Valley - state of São Paulo, Brazil.

The values found in this work average between 170.47 and 228.68 mEq / kg, according to the Brazilian legislation (Brazil, 2001) the results are within the standards that are maximum of 300 mEq / kg, and differ between 5% level. The acid content of the pollen is directly related to the floral origin from which it was collected. Marchini *et al*. (2006) analyzing samples of pollen from Piracicaba found a mean free acid value of 207 meq / kg. Campos *et al*. (2009) found an average value of 213 mEq / kg.

The Brazilian legislation establishes parameters for pH between 4 and 6 in pollen samples, the value found in this work being 4.5 ± 0 for sample A, from 4.5 ± 0 for sample B, 4.0 ± 0 for sample C and 4.2 ± 0 for sample D. The

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

samples present statistical difference at 5% level. The pH value can be influenced by the pH of the nectar, soil or plant species. Mandibular bee substances added to pollen when transporting to the hive may also alter the pH of the pollen. Azevedo *et al*. (2009) analyzing samples of Ceara pollen found value between 4.31 and 4.59 for pH.

The lipid value for sample B did not present significant difference in relation to sample A and C, also in relation to sample D at 5% level in the tukey test. According to Brazilian legislation (BRASIL, 2001), it can be verified that all values for lipids are above the minimum allowable value (1.8%) and differ from each other at the level of 5%.

Similar values were found in the work of Oliveira, (2010) that analyzed samples of bee pollen collected in establishments in the city of Pindamonhangaba presented values ranging from 4.8% to 7.99%, with an average of 6.88%. Melo *et al*. (2009) found an average lipid value of 4.97% in samples of dehydrated bee pollen.

The Brazilian legislation does not establish parameters for water activity in pollen samples, and the value found in this work for the sample C and D is statistically different from each other at 5% level. Barreto *et al*. (2005) states that for pollen to be considered dehydrated, the water activity should be at most 0.57 (Wa), so all samples are in compliance.

We found lower values than Oliveira (2010) found values of water activity ranging from 0.31 to 0.52, with an average of 0.39 in samples of bee pollen collected in establishments in the municipality of Pindamonhangaba.

According to Tab. 2, the analyzed pollen sample, brand A presented low value for 45 ° Coliforms, Mesophilic Aerobes and Fungi and Yeasts. According to Tab. 2, the B and C marks showed high values in Mesophilic Aerobes and Fungi and Yeasts, and low values for Coliforms at 45 °, in the D mark obtained high values for the Aerobic Mesophilic and Fungos and Yeasts analyzes and a high value of Coliforms at 45 °, this can be justified by the higher degree of aw compared to the other samples.

The mesophilic aerobic count or standard plate count in a food product reflects the sanitary quality of the food or raw material, as well as processing, handling and storage conditions. The presence of mesophilic bacteria in large numbers may indicate contaminated raw material; cleaning and disinfection of unsuitable surfaces; sufficient hygiene in the production or preservation of food; inadequate time / temperature conditions during food production or preservation, or a combination of these circumstances (FRANCO and LANDGRAF, 2005).

All samples were absent for analysis of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* sp in 25 g of product.

It is important to point out that it is possible to significantly reduce the presence of pathogenic microorganisms through the dehydration process, but they can still develop due to the beekeeper's negligence in hygiene and handling standards, promoting health risk (VASCONCELOS, 2009).

For the evaluators the brand C presented a greater acceptability for the evaluation of flavor and aroma presenting frequency of 96.67% and 93.33%, respectively.

CONCLUSION

The results of the physico-chemical characteristics of the four brands of dehydrated pollen sold in Belém-Pa were in accordance with the parameters required by the legislation. The B and C marks presented high values in Mesophilic Aerobes and Fungi and Yeasts, in the D mark, the values are out of the standard for the analyzes of Coliforms at 45 ° C, Mesophilic Aerobes and Fungi and Yeasts. All samples were absent for analysis of Staphylococcus aureus and Salmonella sp in 25g of product. According to the sensorial analysis the brand C presented a greater acceptability for the evaluation of flavor and aroma.

REFERENCES:

1. Almaraz-Abarca, N.; Campos, M. G.; Ávila-Reyes, J. A.; Jiménez, N. N.; Corral, J. H.; González-Valdez, L. S. *Journal of Food Composition and Analysis*. **2007**, 20, 320.

2. Arruda, V. A. S. *PhD thesis*, University of São Paulo, Brazil, 2009.

3. Azevedo, et, al**.** Anais do Congresso Brasileiro de Química. Porto Alegre,

• ISSN 1806-0374 (impresso) • ISSN 1806-9827 (CD-ROM) • ISSN 2179-0302 (meio eletrônico)

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Brasil, 2009.

4. Barreto, L. M. R. C.; Funari, S.R.C.; Orsi, R.O. *Boletim de Indústria Animal*, **2005**, 62: 250.

5. BRASIL. Ministério de Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Pólen Apícola. Brasília (DF).

6. BRASIL. Instrução Normativa n. 3, de 19 de janeiro de 2001. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geleia Real, Geleia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis. Brasilia (DF).

7. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água**.** Brasília (DF).

8. Campos, L. N. de O. et al. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade de Taubaté. Brasil, 2009.

9. Carpes, S.T. et al. *Quimica Nova,* **2008**, 3, 1660-1664.

10. Estevinho et al**.** *Food and Chemical Toxicology*, **2012**, 50, 340.

11. Franco, B. D. G. M.; Landgraf, M. *Microbiologia dos alimentos*. Atheneu. 182 p, 2005

12. Lengler, C. B. Anais do I Encontro de Apicultores do Mercosul. São Paulo, Brasil, 2002

13. Marchini, L. C.; Reis, V. D. A. dos; Moreti, A. C. de C. C. Ciência Rural, **2006**, 36: 1050.

14. Martins, M. C. T. *PhD thesis,* Universidade Estadual de Campinas, Brasil, 2010.

15. Melo, I. L. P. D. et al. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, **2009**, 68, 500.

16. Muradian, L.B. A. *PhD thesis*. Universidade de São Paulo, Brasil, 2009.

17. Oliveira, K. C. L. S. *PhD thesis*. Universidade de São Paulo, Brasil, 2006.

18. Oliveira, I.V. Monografia em Biologia. Universidade de Taubaté, 2010.

19. Ribeiro, J.G.; Silva, R.A. *Tecnologia & Desenvolvimento Sustentável*, **2007**, 1, 50.

20. Somerville, D. C. *Journal of Experimental Agriculture*, **2005,** 45: 1800.

21. Vasconcelos, M.R.S. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Alagoas, Brasil, 2009.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 1. *Results of physical-chemical analyzes*

Analyzes	Sample A	Sample B	Sample C	Sample D	BRASIL,2001
Humidity	$3.54^{a} \pm 0.03$	$3.34^{a} \pm 0.05$	$2.75^{a} \pm 0.01$	$2.53^{a} \pm 0.01$	Max 4%
Ashes	$3.17^{a} \pm 0.01$	$3.39^{a} \pm 0.01$	$3.69^{a} \pm 0.01$	$3.14^{a} \pm 0.01$	Max 4% m/m base seca
Proteins	$23.57^{c} \pm 0.01$	$16.59^{d} \pm 0.02$	$20.46^{b} \pm 0.02$	$12.38^{a} \pm 0.03$	Min 8% m/m base seca
Total sugar	$15.49^{a} \pm 0.11$	$29.41^{c} \pm 0.01$	$23.87^{b} \pm 0.03$	$32.40^{d} \pm 0.07$	14,5 a 55 % m/m Base seca
Free acidity	$138.58^{a} \pm 0.18$	$170.47^{b} \pm 0.11$	$228.68^{d} \pm 0.06$	$193.29^{c} \pm 0.01$	Max 300 mEq/Kg
pH	4.5 ± 0^{a}	4.5 ± 0^{a}	4.0 ± 0^{b}	4.2 ± 0^{c}	4 a 6
Lipids	$1.80^{a} \pm 0.03$	$3.07^{ab} \pm 0.01$	$2.46^{a} \pm 0.01$	$4.11^{b} \pm 0.01$	Min 1,8% m/m base seca
Aw	$0.2331^{ab} \pm 0.11$	$0.2976^{ab} \pm 0.06$	$0.2149^{a} \pm 0.01$	$0.3544^{b} \pm 0.01$	------

Table 2. *Results of dehydrated bee pollen marketed in Belém, Pará state, Brazil.*

Analyzes	Sample A	Sample B	Sample C	Sample D
Coliforms at 45 °(UFC/g)	$<1,0 \times 10^{1}$	$<1,0 \times 10^{1}$	$<1,0 \times 10^{1}$	$1,5 \times 10^{2}$
Mesophilic aerobes (UFC/g)	$9,0x10^{1}$	$1,9x10^{2}$	$2,1x10^{2}$	$1,9x10^{4}$
Fungi and Yeast (UFC/g)	$9,0x10^{-1}$	$2,9x10^{3}$	$5,5x10^{2}$	$1,0x10^{4}$
Staphylococus aureus	Absence	Absence	Absence	Absence
Salmonella sp	Absence	Absence	Absence	Absence

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ALGUMAS OBSERVAÇÕES SOBRE O POTENCIAL QUÍMICO DE UM SISTEMA EM UM CAMPO EXTERNO

SOME REMARKS ON THE CHEMICAL POTENTIAL OF A SYSTEM IN AN EXTERNAL FIELD

SALVESTRINI, Stefano[1,2]*; AMBROSONE, Luigi[3]; IOVINO, Pasquale[1,2]; CAPASSO, Sante[2]

[1] Department of Environmental, Biological and Pharmaceutical Sciences and Technologies, Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli", via Vivaldi 43, 81100 Caserta, Italy

[2] Environmental Technologies, University Spin-Off of University of Campania "Luigi Vanvitelli", Via Vivaldi, 43, Caserta, Italy

[3] Department of Medicine and Health Sciences "V. Tiberio", University of molise 86100 Campobasso, Italy

** Corresponding author*
e-mail: stefano.salvestrini@unicampania.it

Received 21 September 2018; received in revised form 22 October 2018; accepted 22 October 2018

RESUMO

A mudança do potencial químico fornece um critério para prever a espontaneidade de qualquer processo físico e químico. Se for pedido para calcular a mudança do potencial químico de um sistema no qual várias forças variam, um estudante pode achar a tarefa bastante complicada à primeira vista. No entanto, o potencial químico é uma função do estado. Esta propriedade permite uma definição precisa da contribuição de cada força para o potencial químico quando todos os outros parâmetros relevantes são mantidos constantes. A alteração total do potencial químico pode ser facilmente calculada somando as contribuições acima. Após uma breve revisão do papel desempenhado por alguns parâmetros do sistema, como atividade (a) dos componentes, temperatura (T), pressão (p) e tensão superficial (γ), assim como campos externos como, por exemplo, gravitacional (Mgh), centrifugo ($Mc\rho$) e campo elétrico ($Fz_i\Phi$), uma equação para a computação do potencial químico (μ) incluindo todas as contribuições acima é relatado: $\mu_i = \mu_i^{\circ\prime} + RT\,lna_i + \bar{V}_i(p - p^\circ) - \bar{S}_i(T - T^\circ) + Mgh + Mc\rho + Fz_i\Phi + 2\gamma\bar{V}_i\frac{1}{r}$, onde $\mu_i^{\circ\prime}$ se refere não somente para p = p° =1 bar, mas também para um valor escolhido de T, h, ρ, Φ e r. Finalmente, exemplos aplicativos são ilustrados.

Palavras-chave: *Potencial Químico; Função de estado; Campo externo.*

ABSTRACT

The chemical potential change provides a criterion for predicting the spontaneity of any physical and chemical process. If asked to calculate the chemical potential change of a system in which several forces vary, a student might find the task quite complicate at first glance. However, the chemical potential is a state function. This property permits a precise definition of the contribution of each force to the chemical potential when all other relevant parameters are kept constant. The total chemical potential change can easily be calculated by summing up the above contributions. After a brief review of the role played by some parameters of the system, like activity (a) of the components, temperature (T), pressure (p) and surface tension (γ), as well as of external fields, i.e. gravitational (Mgh), centrifugal ($Mc\rho$) and electric field ($Fz_i\Phi$), an equation for the computation of the chemical potential (μ) including all the above contributes is reported: $\mu_i = \mu_i^{\circ\prime} + RT\,lna_i + \bar{V}_i(p - p^\circ) - \bar{S}_i(T - T^\circ) + Mgh + Mc\rho + Fz_i\Phi + 2\gamma\bar{V}_i\frac{1}{r}$, where $\mu_i^{\circ\prime}$ refers not only to p = p° =1 bar but also to a chosen value of T, h, ρ, Φ and r. Finally, applicative examples are illustrated.

Keywords: *Chemical potential; State function; External field.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUCTION

As reported in thermodynamics textbooks (Atkins et al. 2017; Capasso 2012; De Voe, 2014), Gibbs equations for open systems have the following forms:

$$dU = TdS - pdV + \sum_{i=1}^{k} \mu_i d\, n_i \qquad \text{(Eq.1)}$$

$$dH = TdS + Vdp + \sum_{i=1}^{k} \mu_i d\, n_i \qquad \text{(Eq.2)}$$

$$dA = -SdT - pdV + \sum_{i=1}^{k} \mu_i d\, n_i \qquad \text{(Eq.3)}$$

$$dG = -SdT + Vdp + \sum_{i=1}^{k} \mu_i d\, n_i \qquad \text{(Eq.4)}$$

where U, T, S, p, V, H, A and G are the internal energy, thermodynamic temperature, entropy, pressure, volume, enthalpy, Helmholtz energy and Gibbs energy, respectively, and μ_i the chemical potential (Gibbs, 1878) of the system components. The "potential" is ability of a system to perform work. $\sum_{i=1}^{k} \mu_i d\, n_i$ is frequently referred to as the "chemical work". It follows from eq.(4) that the chemical potential of a component in a solution is defined by the relation

$$\mu_i = \left(\frac{\partial G}{\partial n_i}\right)_{T,p,n_{j\neq}n_i} = \bar{G}_i \qquad \text{(Eq.5)}$$

where $\bar{G}_i$ is the partial molar Gibbs energy and μ_i the rate at which the (extensive) Gibbs energy of the solution increases as the number of moles (extensive) of the component in question increases; μ_i is expressed in energy units per unit mass (Joule/kg), per mole (Joule/mole), or per molecule of the substance considered: in this paper we will refer to moles. Other relations that define the chemical potential can be obtained from eqs.(1) to (3) as follows:

$$\mu_i = \left(\frac{\partial U}{\partial n_i}\right)_{S,V,n_{j\neq}n_i};\ \mu_i = \left(\frac{\partial H}{\partial n_i}\right)_{S,p,n_{j\neq}n_i};\ \mu_i = \left(\frac{\partial A}{\partial n_i}\right)_{T,V,n_{j\neq}n_i} \qquad \text{(Eq.6)}$$

One of the most frequent uses of the chemical potential is to define the equilibrium or distribution criterion of a component between two or more phases. It measures the "escaping tendency" for a component in a solution, i.e. the tendency of a compound to escape by moving to another point of the same phase or another phase, or by reacting.

Before being introduced to the notion of chemical potential, undergraduate students usually have already met different types of potential, notably the electric potential and gravitational potential. In each case the product of the potential difference between two points and the amount of what is transferred (electric charges and matter for the electric and gravitational potential, respectively) gives the work (or energy) necessary for the shift to take place in a reversible manner, or produced by the shift. Likewise, if between two points or two states α and β of a system there is a difference in the chemical potential of the compound i (μ_i^{β} and μ_i^{α}), the product between (μ_i^{β} - μ_i^{α}) and n_i is the minimum work necessary for the transition, by a chemical or physical process, of n moles of the compound i from α to β (or the maximum amount of non-expansion work that can be extracted). This relation between chemical potential and work allows the assessment of the contribute of external fields on μ (Yeats et al., 2017; Job and Herrmann, 2006; Guangze and Janjia, 2018; Lepori et al., 2018; Kaptay, 2017; Sevilla and Olivarez-Quinoz, 2012; Salvestrini et al., 2014; Salvestrini et al., 2015).

From chemical thermodynamics we know that the chemical potential is related to the activity of a compound in a condensed phase (or to the concentration for an ideal solution, or to the fugacity, or pressure, for gas) by the relation:

$$\mu_i = \mu_i^{\circ} + RT\, ln a_i \qquad \text{(Eq.7)}$$

where μ_i° is the chemical potential of i in the standard state. This equation supposes that all the other variables that affect thermodynamic properties of i are constant.

The aim of this paper is to put together the contributes of all the variables involved in a single equation.

CHEMICAL POTENTIAL AS AFFECTED BY DIFFERENT PARAMETERS

Gibbs energy is a function of all the variables that affect the system:

$$G = f(X_1, X_2, \ldots\ldots, X_n) \qquad \text{(Eq.8)}$$

From (Eq.5) and (Eq.8) we obtain, for the compound i in a system characterised by n independent variables:

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

$$d\mu_i = \sum_1^n \left(\frac{d\bar{G}_i}{dX_m}\right) dX_m \quad \text{(Eq.9)}$$

where X_m is the mth variable. Let us now consider a system in which μ_i is affected by the activity (or fugacity for a gaseous system) (a_i), pressure (p), and temperature (T), whereas all the other variables are constant; from eq.(9) we obtain:

$$d\mu_i = \left(\frac{d\bar{G}_i}{da_i}\right)_{p,T,n_{j\neq}n_i} da_i + \left(\frac{d\bar{G}_i}{dp}\right)_{a_i,T,n_{j\neq}n_i} dp + \left(\frac{d\bar{G}_i}{dT}\right)_{a_i,p,n_{j\neq}n_i} dT \quad \text{(Eq.10)}$$

$$d\mu_i = \frac{RT}{a_i} da_i + \bar{V}_i dp - \bar{S}_i dT \quad \text{(Eq.11)}$$

where $\bar{S}_i$ and $\bar{V}_i$ are the molar entropy and molar volume, respectively.

The change in the chemical potential between state 1 and state 2 due to activity, temperature and pressure can therefore be expressed as:

$$\mu_i(2) - \mu_i(1) = \int_{a_{i,1}}^{a_{i,2}} \frac{RT}{a_i} da_i + \int_{p_1}^{p_2} \bar{V}_i dp - \int_{T_1}^{T_2} \bar{S}_i dT \quad \text{(Eq.12)}$$

If other forces act on the system, e.g. a gravitational field or electromagnetic field (Ambrosone and Fontana, 2005) their contribution to the change in Gibbs energy and chemical potential should be added into eqs.(4, 10, 11). Let us examine the contribution of gravitational field, centrifugal field, electric field and surface tension.

It is known that the differential chemical potential of an object of molar mass M in a gravitation field with gravitational acceleration g varies with the height h (keeping constant all the other parameters that affect Gibbs energy) as follows (Han and Wang, 2013):

$$d\mu_i = Mgdh \quad \text{(Eq.13)}$$

The same applies for a centrifugal field:

$$d\mu_i = Mcd\rho \quad \text{(Eq.14)}$$

where c is the centrifugal acceleration and ρ the radial distance from the rotation axis.

The differential chemical potential for charged species can be expressed as:

$$d\mu_i = F\, z_i d\Phi \quad \text{(Eq.15)}$$

where F is the Faraday constant, z_i the charge of ion i, and Φ the electric field potential.

It is known that in a closed container saturated with the vapour of a specific liquid, the smaller drops disappear while the larger ones increase in size. This is due to the fact that Gibbs energy varies with the surface area (once again by keeping constant all the other parameters) according to the relation:

$$dG = \gamma ds \quad \text{(Eq.16)}$$

where γ is the surface tension and s the surface area. For a spherical drop, we may express the rate of change of s with volume V as

$$\frac{ds}{dV} = \frac{8\pi r dr}{4\pi r^2 dr} = \frac{2}{r} \quad \text{(Eq.17)}$$

which leads to

$$ds = \frac{2}{r} dV = \frac{2}{r} \bar{V}_i dn_i \quad \text{(Eq.18)}$$

where r is radius of the drop. It follows that an infinitesimal change in the chemical potential arising from an infinitesimal change in the surface area is (Lewis and Randall, 1961)

$$d\mu_i = 2\gamma \bar{V}_i d\frac{1}{r} \quad \text{(Eq.19)}$$

Therefore, the total chemical potential change due to changes in the activity, pressure, temperature, gravitational field, centrifugal field, electric field and surface tension is given by

$$d\mu_i = \left(\frac{d\bar{G}_i}{da_i}\right)_{p,T,h,\rho,\Phi,s,n_{j\neq}n_i} da_i + \left(\frac{d\bar{G}_i}{dp}\right)_{a_i,T,h,\rho,\Phi,s,n_{j\neq}n_i} dp + \left(\frac{d\bar{G}_i}{dT}\right)_{a_i,p,h,\rho,\Phi,s,n_{j\neq}n_i} dT + \left(\frac{d\bar{G}_i}{dh}\right)_{a_i,p,T,\rho,\Phi,s,n_{j\neq}n_i} dh + \left(\frac{d\bar{G}_i}{d\rho}\right)_{a_i,p,T,h,\Phi,s,n_{j\neq}n_i} d\rho + \left(\frac{d\bar{G}_i}{d\Phi}\right)_{a_i,p,T,h,\rho,s,n_{j\neq}n_i} d\Phi + \left(\frac{d\bar{G}_i}{ds}\right)_{a_i,p,T,h,\rho,\Phi,n_{j\neq}n_i} ds \quad \text{(Eq.20)}$$

$$\int_{\mu_i(1)}^{\mu_i(2)} d\mu_i = \mu_i(2) - \mu_i(1) = \int_{a_{i,1}}^{a_{i,2}} \frac{RT}{a_i} da_i + \int_{p_1}^{p_2} \bar{V}_i dp - \int_{T_1}^{T_2} \bar{S}_i dT + \int_{h_1}^{h_2} Mgdh + \int_{\rho_1}^{\rho_2} Mcd\rho + \int_{\Phi_1}^{\Phi_2} F\, z_i d\,\Phi + \int_{\frac{1}{r_1}}^{\frac{1}{r_2}} 2\gamma \bar{V}_i d\frac{1}{r} \quad \text{(Eq.21)}$$

If we assume that $\mu_i°$ refers not only to p = p° =1 bar but also to a chosen standard state of a (a° = 1), T (e.g. T°=25°C), h (h° = 0), ρ (ρ° = 0), Φ (Φ° = 0) and r (r° = +∞, i.e. plane surface), and

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

indicating this state with the symbol $\mu_i^{\circ\prime}$, we have from eq.(16) that the chemical potential of i at some a_i, p, T, h, ρ, Φ and r is:

$$\int_{\mu_i^\circ}^{\mu_i} d\mu_i = \int_{a_i^\circ}^{a_i} \frac{RT}{a_i} da_i + \int_{p^\circ}^{p} \bar{V}_i dp - \int_{T^\circ}^{T} \bar{S}_i dT + \int_{h^\circ}^{h} Mg dh + \int_{\rho^\circ}^{\rho} Mc d\rho + \int_{\Phi^\circ}^{\Phi} F z_i d\Phi + \int_{\frac{1}{r^\circ}}^{\frac{1}{r}} 2\gamma \bar{V}_i d\frac{1}{r}$$

(Eq.22)

$$\mu_i = \mu_i^{\circ\prime} + RT \ln a_i + \bar{V}_i(p - p^\circ) - \bar{S}_i(T - T^\circ) + Mgh + Mc\rho + Fz_i\Phi + 2\gamma\bar{V}_i\frac{1}{r} \quad \text{(Eq.23)}$$

where $\bar{V}_i$, $\bar{S}_i$, g, c and γ have been assumed constant relative to p, T, h, g, ρ and r, respectively.

The above equation allows an easy computation of changes of μ when different parameters such as electric field, gravity, temperature and pressure act on the system.

Let us examine possible applications of the equation above.

EXAMPLES

Example 1. Consider an anionic polymer, molecular mass = 100,000 g mol^{-1}, in the sodium form $(P^{n-}Na_n^+)$. Its aqueous solution, 100 mg L^{-1} is put in an osmometer, with a membrane permeable to Na^+ ion and water molecules but not to P^{n-} anions. A constant pressure of 10.0 bar is applied to the polymer solution (phase α), the pressure on the other side (phase β) being 1.0 bar. At the equilibrium, T = 25 °C, the membrane potential (electrical potential difference between phase β and phase α is 0.100 V and the sodium concentration in the phase α is 0.01M. Knowing that the partial molar volume of Na^+ ($\bar{V}_{Na^+}$) = -6.62 mL mol^{-1} (Marcus, 2009), calculate the concentration of Na^+ in the phase β at the equilibrium.

Solution: At the equilibrium the chemical potential of Na^+ is, of course, the same on either side of the osmometer, i.e. $\mu_{\alpha,Na^+} = \mu_{\beta,Na^+}$. Under constant electric, gravitational and centrifugal fields (or in their absence), under constant temperature, and assuming that the solutions on both sides of the membrane have planar surface and ideal behaviour, eq.(23) gives:

$$\mu_i^{\circ\prime} + RT \ln\left(\frac{[Na^+]_\alpha}{1M}\right) + \bar{V}_{Na^+}(p_\alpha - p^\circ) - \bar{S}_{Na^+}(T - T^\circ) + Mgh + Mc\rho + Fz_{Na^+}\Phi_\alpha = \mu_i^{\circ\prime} + RT \ln\left(\frac{[Na^+]_\beta}{1M}\right) + \bar{V}_{Na^+}(p_\beta - p^\circ) - \bar{S}_{Na^+}(T - T^\circ) + Mgh + Mc\rho + Fz_{Na^+}\Phi_\beta$$

(Eq.24)

After simplification and solving for $[Na^+]_\beta$ we obtain:

$$[Na^+]_\beta = [Na^+]_\alpha exp\left\{\frac{1}{RT}\left[\bar{V}_{Na^+}(p_\alpha - p_\beta) + Fz_{Na^+}(\Phi_\alpha - \Phi_\beta)\right]\right\} \quad \text{(Eq.25)}$$

$$[Na^+]_\beta = 0.01M exp\left\{\frac{1}{8.3145\,Pa\,m^3\,mol^{-1}K^{-1}298.15K}[-6.62 \times 10^{-6}m^3\,mol^{-1}(10-1)\times 10^5 Pa + 96485 C mol^{-1}\times 1\times(-0.100)V]\right\} = 2.04\times 10^{-4}M \quad \text{(Eq.26)}$$

Example 2. In a chemical plant, two tanks contain water kept at constant temperature and pressure: the first tank at T = 30 °C and the second at T = 50 °C; the first is under a pressure of 1.0 bar, the latter of 10 bar. If the two tanks are separated by a permeable membrane to water, predict the direction of flow.

Standard molar entropy of water (at 298K) ($\bar{S}°$): = 69.91 J K^{-1}mol^{-1}
Molar volume of water ($\bar{V}$): 18 mL mol^{-1}
Molar heat capacity of water ($\bar{C}_p$): 75.2 J K^{-1} mol^{-1}.

Solution: In this example, μ depends only on pressure and temperature, hence from eq.(22) we obtain:

$$\int_{\mu_i^\circ}^{\mu_i} d\mu_i = \int_{p^\circ}^{p} \bar{V} dp - \int_{T^\circ}^{T} \bar{S} dT \quad \text{(Eq.27)}$$

The effect of temperature on entropy can be taken into account, assuming that $\bar{C}_p$ does not vary with temperature, by:

$$\bar{S} = \bar{S}° + \bar{C}_p \ln\frac{T}{T^\circ} \quad \text{(Eq.28)}$$

By substituting eq.(28) into eq.(27) and integrating, we get

$$\mu_1 = \mu_w^{\circ\prime} + \bar{V}(p_1 - p^\circ) - \bar{S}^\circ(T_1 - T^\circ) - \bar{C}_p T_1\left(\ln\frac{T_1}{T^\circ} - 1\right) \quad \text{(Eq.29)}$$

$$\mu_2 = \mu_w^{\circ\prime} + \bar{V}(p_2 - p^\circ) - \bar{S}^\circ(T_2 - T°) -$$

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

$\bar{C}_p T_2 \left(ln \frac{T_2}{T^\circ} - 1 \right)$ (Eq.30)

where μ_1 and μ_2 are the chemical potential of water in the first and second tank, respectively, and $\mu_w^\circ{}'$ is the standard chemical potential of water.

The difference in chemical potential between the two tanks is

$\mu_2 - \mu_1 = -1456\, J\, mol^{-1} < 0$ (Eq.31)

Therefore, although the pressure in the second tank is much higher than that in the first tank, water will flow in the opposite direction, i.e. from the first (cold) towards the second (hot) tank. In this example, the decrease in the chemical potential with temperature overcomes its increase with pressure. A similar direction of mass trasport (from cold to hot area) may be observed, for example, for the thermodiffusion of molecules with sufficient high molar entropy (Kocherginsky and Gruebele, 2016; Barragàn and Kjelstrup, 2017).

CONCLUSIONS:

We have shown that the calculation of chemical potential as simultaneously affected by several thermodynamic parameters, can be easily calculated by summing up the individual contribution of each parameter.

REFERENCES:

1. Ambrosone L, Fontana F. Eur Phys J B **2005**, 48, 537–545.

2. Atkins P, de Paula J, Keeler J. In: Atkins' Physical Chemistry. OUP Oxford eds. (2017) ISBN: 9780198769866

3. Barragán VM, Kjelstrup S. Thermo-osmosis in Membrane Systems: A Review.(**2017**) Journal of Non-Equilibrium Thermodynamics, 42(3), pp. 217-236

4. Capasso S. In: La Chimica Fisica Attraverso Esercizi. Loghia eds, Italy, 2012 ISBN: 9788895122205.

5. Cavalcanti E, Castro E, Linhares CA, Malbouisson APC, Influence of external magnetic field, finite-size effects and chemical potential on the phase transition of a complex scalar field, Eur. Phys. J. C (**2017**) 77: 711

6. DeVoe H. In: Thermodynamics and Chemistry, copyright 2014 by Howard DeVoe (2017) http://www2.chem.umd.edu/thermobook.

7. Gibbs JW. Am J Sci **1878**, 16, 441-458.

8. Guangze H and Jianjia M, Extension of Gibbs–Duhem equation including influences of external fields, Continuum and Thermodynamics, 30 (**2018**), 817-823

9. Han G, Wang H, Generalized expression of chemical potential with influence of external fields and its applications: Effect of charged particles on droplet condensation, Fluid Phase Equilibria, 338, (**2013**), 269-273

10. Job G and Herrmann F, Chemical potential a quantity in search of recognition Eur. J Phys 27 (2) **2006**

11. Kaptay G, A new paradigm on the chemical potentials of components in multi-component nano-phases within multi-phase systems, RSC Advances, **2017**, 7, 41241-41253

12. Kocherginsky N, Gruebele M. Mechanical approach to chemical transport. PNAS (**2016**) 113 (40) 11116-11121.

13. Lepori L, Maraga A, Celi A, Dell'Anna L, Trombettoni A, Effective Control of Chemical Potentials by Rabi Coupling with RF-Fields in Ultracold Mixtures, Condens. Matter **2018**, 3, 14; doi:10.3390/condmat3020014

14. Lewis GN, Randall M. In: Thermodynamics. New York, McGraw-Hill (**1961**) ISBN: 9780070376229.

15. Marcus Y. J Phys Chem B **2009**, 113(30), 10285–10291.

16. Salvestrini S, Leone V, Iovino P, Canzano S, Capasso S. Considerations about the correct evaluation of sorption thermodynamic parameters from equilibrium isotherms. Journal of Chemical Thermodynamics, **2014**, 68: 310–316.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

17. Salvestrini S, Vanore P, Iovino P, Leone V, Capasso S. Adsorption of Simazine and Boscalid onto acid-activated natural clinoptilolite. Environmental Engineering and Management Journal, **2015**, 14(7): 1705-1712.

18. Sevilla FJ and Olivares-Quiroz L, Chemical potential for the interacting classical gas and the ideal quantum gas obeying a generalized exclusion principle, Eur. J. Phys. 33 (**2012**) 709–722.

19. Yeats AL, Mintun PJ, Pan Y, Richardella A, Buckley BB, Samarth N, Awschalom DD, PNAS 26, **2017** 114 (39) 10379-10383

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

SÍNTESE LIVRE DE SOLVENTES E ESTRUTURA DE CRISTAL DE *rac*-2-TIOHIDANTOINA-VALINA

SOLVENT-FREE SYNTHESIS AND CRYSTAL STRUCTURE OF *rac*-2-THIOHYDANTOIN-VALINE

DELGADO, Gerzon E.[1*]; MORA, Asiloé J.[1]; GONZÁLEZ, Teresa[2]; SANTOS, Iris[3]; RIVAS, Pedro[3]; SEIJAS, Luis E.[4]

[1] Laboratorio de Cristalografía, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida 5101, Venezuela
(phone: +58 274 2401394; fax: +58 274 2401286)

[2] Centro de Química, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Caracas 1020-A, Venezuela.
(phone: +58 212 5051320)

[3] Laboratorios de Docencia, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida 5101, Venezuela
(phone: +58 416 7779889)

[4] Laboratorio de Procesos Dinámicos en Química, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida 5101, Venezuela
(phone: +58 412 1712538)

** Corresponding author*
e-mail: gerzon@ula.ve

Received 30 September 2017; received in revised form 18 October 2018; accepted 22 October 2018

RESUMO

As tiohidantoínas têm sido utilizadas na fabricação de medicamentos e em processos industriais. Dependendo da natureza e do tipo de substituição no anel heterocíclico, estes compostos podem apresentar atividade farmacêutica e biológica com uma variedade de aplicações como antiepiléptico, antitumoral, anti-inflamatório e, principalmente, para o tratamento do câncer da próstata. Neste estudo, uma nova tiohidantoína foi sintetizada a partir do aminoácido valina e estruturalmente caracterizada. O composto de fórmula $C_6H_{10}N_2O_2S$ com o nome sistemático rac-5-isopropil-2-tioxoimidazolidin-4-ona, foi sintetizado por uma síntese isenta de solvente. O composto heterocíclico foi caracterizado por técnicas de espectroscopia de infravermelho (FTIR) e ressonância magnética nuclear (RMN), análise de difração de raios X em pó e monocristal (XRD). Este material cristaliza no grupo espacial monoclínico $P2_1/c$. Na estrutura supramolecular, as moléculas são unidas pelas ligações de hidrogênio N---H···O e N---H···S, formando dímeros centrossimétricos $R^2_2(8)$ e cadeias $C^2_2(9)$ que percorrem a direção [001] em uma rede unidimensional infinita.

Palavras-chave: *tiohidantoína, síntese livre de solvente, química supramolecular, estrutura do cristal, ligações de hidrogênio*

ABSTRACT

Thiohydantoins have been used in the manufacture of medicines and in industrial processes. Depending on the nature and type of substitution on the heterocyclic ring, these compounds may display pharmaceutical and biological activity with a variety of applications as antiepileptic, antitumoral, anti-inflammatory, and principally for the treatment of prostate cancer. In this study, a new thiohydantoin was synthetized from the valine amino acid and structurally characterized. The title compound, $C_6H_{10}N_2O_2S$, with systematic name *rac*-5-isopropyl-2-tioxoimidazolidin-4-one, has been synthetized by a solvent-free synthesis. The heterocyclic compound was characterized by spectroscopic infrared (FTIR) and nuclear magnetic resonance (NMR) techniques, powder and single-crystal X-ray diffraction analysis (XRD). This material crystallizes in the monoclinic space group $P2_1/c$. In the supramolecular structure, the molecules are joined by N---H···O and N---H···S hydrogen bonds, forming centrosymmetric $R^2_2(8)$ dimers and $C^2_2(9)$ chains that run along the [001] direction in an infinite one-dimensional network.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Keywords: *thiohydantoin, solvent-free synthesis, supramolecular chemistry, crystal structure, hydrogen bonds*

INTRODUCTION

Thiohydantoins, or 2-thioxoimidazolidin-4-ones, or are sulfur analogs of hydantoins, or imidazolidine-2,4-diones. These compounds are five-member heterocyclic system with a very reactive nucleus, which provides four possible points of diversity (Avendaño and González, 1985; Meusel and Gütschow, 2004). Depending on the nature and type of substitution on the heterocyclic ring, these compounds may display pharmaceutical and biological activity with a variety of applications: antiepileptic activity, antitumoral and antiinflammatory (Thenmozhiyal *et al*., 2004), fungicidal (Marton *et al*., 1993), antiviral (Opačić *et al*., 2005), herbicide (Hanessian *et al*., 1995), HIV protease inhibitor (Comber *et al*., 1992), hypolipidimic agent Tompkins, 1986), and anti-hypertensive agent (Kieć-Kononowicz *et al*., 2003). Nevertheless, the principal current interest comes from the application of thiohydantoins for the treatment of prostate cancers (Harrison, 2009; Shen and Balk, 2009).

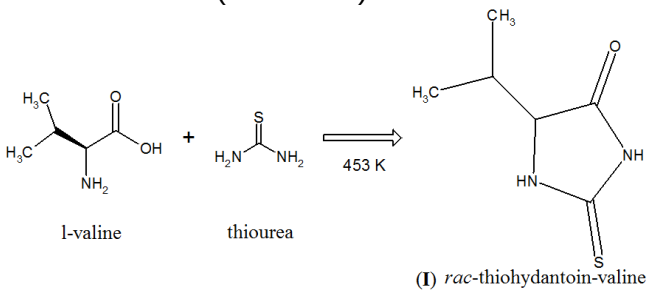
These heterocycles are commonly used as templates in combinatorial chemistry libraries, due its very reactive nucleus which provides four possible points of diversity (Park *et al*., 2001; Muccioli *et al*., 2003), and there has been an interest in the search of new synthetic routes for its preparations (Vázquez *et al*., 2004; Wang *et al*., 2006; Reyes and Burgess, 2006).

As part of our research work to explore the synthesis and structural characterization of hydantoin and thiohydantoin derivative compounds (Delgado *et al*., 2007; 2012; 2013; 2014; 2015a; 2015b; 2015c; 2016; Sulbaran *et al*., 2007; Uzcátegui *et al*., 2009; Seijas *et al*., 2010; 2014), we have investigated the synthesis, crystalline and molecular structure of *rac*-2-thiohydantoin-valine, systematic name *rac*-5-isopropyl-2-tioxoimidazolidin-4-one, synthesized from a solvent-free reaction.

MATERIALS AND METHODS

Solvent-free synthesis

All the reagents used were obtained from Sigma-Aldrich and were used without any further purification. The title compound was synthesized using a solvent-free modified methodology previously reported (Reyes and Burgess, 2006; Delgado *et al*., 2015). L-valine and thiourea were mixed in an agate mortar in 1:3 molar ratio. The solid mixture was placed in a reflux system and heated in an oil bath to 453 K, where thiourea melt and amino acid was dissolved in it. Reaction was maintained for 30 minutes and then let cool to room temperature. The resulting white solid was washed with cool water and filtered (mp 409-410 K). Crystal of (**I**) suitable for X-ray diffraction analysis were obtained by slow evaporation of ethanol solution (Scheme 1).



Scheme 1. *Synthesis of rac-2-thiohydantoin-valine (**I**)*

Spectroscopic studies

The synthesized compound (**I**) was characterized by spectroscopic data. The Fourier-Transform Infrared (FT-IR) absorption spectrum was obtained as KBr pellet using a Perkin-Elmer 1600 spectrometer. ^{1}H-NMR and ^{13}C-NMR spectra (Nuclear Magnetic Resonance) were recorded on a Bruker Avance 400 model spectrometer in DMSO-d_6 solution.

FT-IR: 1175 cm^{-1} (t, C-N), 1737 cm^{-1} (t, C=O), 3150 cm^{-1} (t, N-H)].

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO d_6): δ 11.60 (s, 1H, N3H3), 10.00 (s, 1H, N1H1), 4.10 (d, 1H, C5H5), 1,98 (m, 1H, C6H6), 0.99 (m, 2H, C8H8), 0.83 (t, 3H, C7H7).

^{13}C-NMR (100 MHz, DMSO d_6): δ 182.71 (C2), 175.97 (C4), 64.33 (C5), 36.04 (C6), 23.50 (C8), 14.87 (C7).

Powder X-ray diffraction study

The powder pattern of (**I**) was collected at room temperature in a Phillips PW-1250 goniometer using monocromatized CuKα

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

radiation. A small quantity of compound was ground mechanically in an agate mortar and pestle and mounted on a flat holder covered with a thin layer of grease. The sample was scanned from 5-65° 2θ, with a step size of 0.02° and counting time of 10s. Silicon was used as an external standard. Powder X-ray pattern of the thiohydantoin compound (**I**) is show in Figure 1. The 20 first measured reflections were completely indexed using the program Dicvol04 (Boultif and Louër, 2004), which gave a unique solution in a monoclinic cell with parameters *a*= 5.73 Å, *b*= 17.42 Å, *c*= 8.23 Å, β= 103.5°. In order to confirm the unit cell parameters, a Le Bail (Le Bail, 2005) refinement was carried out using the Fullprof program (Rodríguez-Carvajal, 2017). Figure 1 shows a very good fit between the observed and calculated patterns.

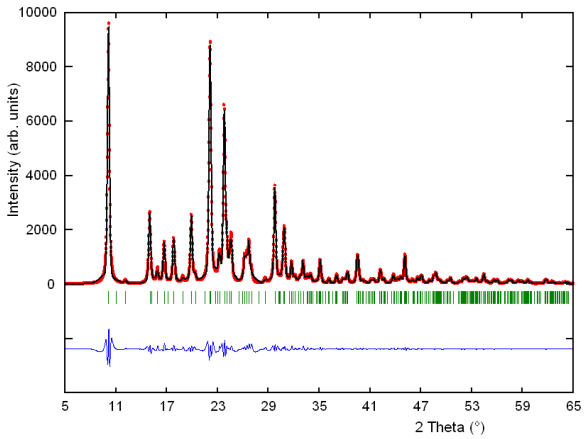


Figure 1. *X-ray powder diffraction data for (**I**). The powder pattern was refined without structural model to confirm the unit cell parameters*

X-ray data collection and structure determination

Colorless rectangular crystal (0.2 x 0.12 x 0.11 mm) was used for data collection. Diffraction data were collected at 298(2) K by ω-scan technique on a Rigaku AFC7S Mercury diffractometer, equipped with graphite monochromatized MoKα radiation (λ = 0.71073 Å). The data were corrected for Lorentz-polarization and absorption effects. Three standard reflections were monitored every 100 reflections (intensity decay: none). The structure was solved by direct methods using the SHELXS program (Sheldrick, 2008), and refined by a full-matrix least-squares calculation on F^2 using SHELXL (Sheldrick, 2015). All H atoms were placed at calculated positions and treated using the riding model, with C-H distances of 0.97-0.98 A, and N-H distances of 0.86 A. The Uiso(H) parameters were fixed at 1.2Ueq(C, N) and 1.5Ueq(methyls). Table 1 summarizes the crystal data, intensity data collection and refinement details for the title compound. Crystallographic data for the structure have been deposited with the Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC-933209).

RESULTS AND DISCUSSION:

The title compound (**I**) crystallizes with one independent molecule in the asymmetric unit, in a centrosymmetric space group, which implies that L-valine suffered an amino acid racemization in the synthesis (Yoshioka, 2007). Figure 2 shows the molecular structure and the atom-labeling scheme of *rac*-2-thiohydantoin-valine. Selected geometrical parameters are presented in Table 2.

Table 1. *Crystal data, data collection and structure refinement for rac-2-thiohydantoin-valine (**I**)*

CCDC	933209
Chemical formula	$C_6H_{10}N_2O_2S$
Formula weight	158.23
Crystal system	Monoclinic
Space group	$P2_1/c$
a(Å)	5.7217(7)
b(Å)	17.410(2)
c(Å)	8.241(1)
β(°)	103.710(3)
V(Å^3)	797.6(2)
Z	4
dx (g cm^{-3})	1.318
F(000)	336
μ(mm-1)	0.341
Crystal size (mm)	0.20 x 0.12 x 0.11
θ range (°)	2.3-28.1
hkl range	-6, 7; -20, 20; -10, 1(
Reflections	
Unique	1601
Rint	0.032
With I > 2σ(I)	1303
Refinement method	Full-matrix ls on F^2

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Number of parameters	94
$R(F^2)$ [I > 2σ(I)]	0.0410
$wR(F^2)$ [I > 2σ(I)]	0.1171
Goodness of fit on F	1.03
Max/min Δρ (e Å^{-3})	0.21/-0.20

Table 2. *Selected geometrical parameters (Å, º) for (**I**)*

S1-C2	1.661(2)	N1-C5	1.458(2)
O1-C4	1.217(2)	N3-C2	1.378(2)
N1-C2	1.328(2)	N3-C4	1.367(2)
S1-C2-N3	124.7(1)	S1-C2-N1	128.5(1)
N1-C2-N3	106.7(2)	O1-C4-N3	126.3(2)
C5-N1-C2-S1	-179.9(1)	C4-N3-C2-S1	179.9(1)

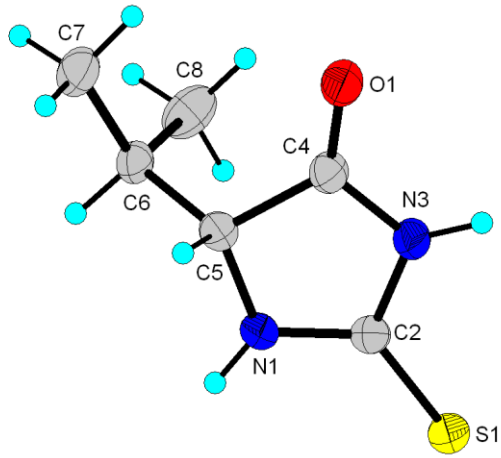


Figure 2. *The molecular structure of (I), showing the atomic numbering scheme. Displacement ellipsoids are drawn at 50% probability level. H atoms are shown as spheres of arbitrary radii*

Table 3 shows the hydrogen bonding geometry for the title compound. All bond distances and angles are normal and are in agreement with the average values found in 31 entries with thiohydantoin ring fragments, searched in the Cambridge Structural Database (CSD, version 5.38, May 2017) (Groom and Allen, 2014), with N1 and N3 unsubstituted and sp^3 hybridization at C5. For instance, the S1-C2 distance value 1.661(2) Å, agree with the average value of 1.646 Å found for the 31 fragments, with minimal and maximum reported values of 1.519 and 1.696 Å, respectively. The thiohydantoin ring is essentially planar with a maximum deviations of 0.003 (2) Å in N3 and −0.004 (2) Å in C2. The S1-C2-N1, 128.5(1)° bond angle is greater than S1-C2-N3, 124.7(1)°. This difference is also observed in all 31 fragments with average values of 127.7° and 125.2°, respectively.

Table 3. *Hydrogen bonds geometry (Å, º). (D-donor; A-acceptor; H-hydrogen) for (**I**)*

D--H···A	D--H	H···A	D···A	D--H···A
N3-- H3···O1$^{(i)}$	0.860	2.030	2.866(2)	164.0
N1--H1···S1$^{(ii)}$	0.860	2.530	3.389(2)	176.0

Symmetry codes: $^{(i)}$ 1-x, -y, -z, $^{(ii)}$ -x, -y, 1-z

The molecular structure and crystal packing of (I) are stabilized by N--H···O and N--H···S hydrogen bonds (Figure 3). The N3--H3···O1 (1-x, -y, -z) hydrogen bond generates centrosymmetric rings parallel to the *bc* plane, described by the graph-set $R^2_2(8)$ (Etter, 1990). This motif constituted a typical amide-amide hydrogen bond joining pairs of molecules, and is also observed in other thiohydantoins (Groom and Allen, 2014). These dimers are parallel linked through the N1--H1···S1 (-x, -y, 1-z) hydrogen bond to form a second centrosymmetric ring motif $R^2_2(8)$ type (Figure 3). The combination of these rings produces $C^2_2(9)$ chains, which run along the [001] direction, forming infinite zig-zag chains parallel to the *bc* plane (Figure 4).

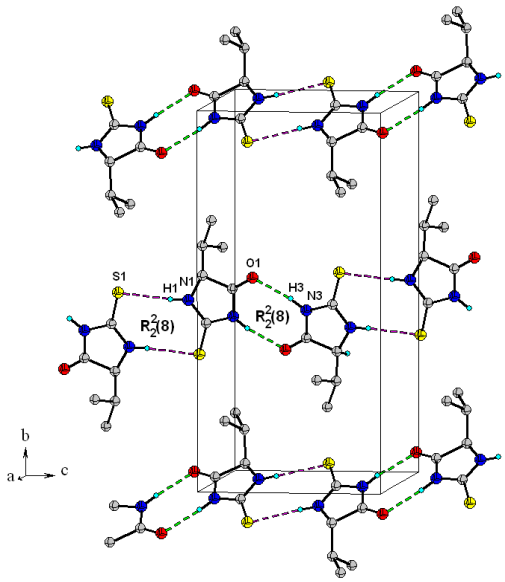


Figure 3. *A portion of the crystal packing for (**I**). Intermolecular hydrogen bonds, N--H···O and N--H···S, are indicated by dashed lines. H atoms not involved in hydrogen bonding have been omitted for clarity*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

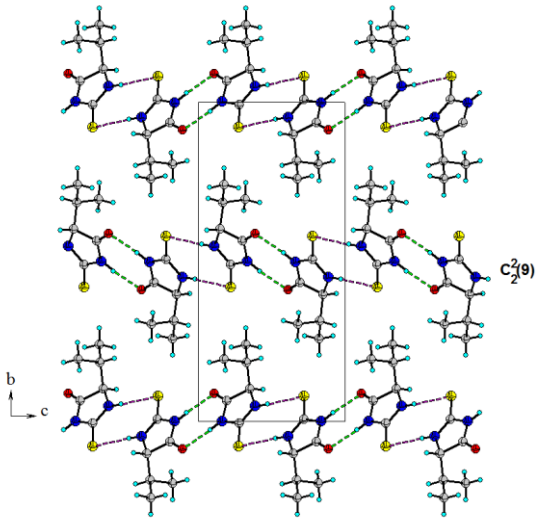


Figure 4. *Crystal packing for (**I**) viewed in the bc plane showing supramolecular structures extending along c direction forming $C^2_2(9)$ chains*

CONCLUSIONS:

The title compound, *rac*-thiohydantoin-valine, was synthesized by a solvent-free reaction of valine and thiourea and its crystal structure was characterized by X-ray diffraction analysis. In the supramolecular structure of (**I**), the molecules are linked by N---H···O and N---H···S hydrogen bonds, forming infinite one-dimensional chains with graph-set motif $C^2_2(9)$ formed by centrosymmetric rings $R^2_2(8)$.

For this new thiohydantoin compound, known its crystalline structure, its biological properties will be studied as a possible anticancer agent.

ACKNOWLEDGMENTS:

This work was supported by CDCHTA-ULA (grant C-1980-16-08-A) and FONACIT (grant LAB-97000821).

REFERENCES:

1. Avendaño López, C., González Trigo, G. *Adv. Heter. Chem*. **1985**, *38*, 177.
2. Meusel, M., Gütschow, M. *Org. Prep. Proc. Int*. **2004**, *36*, 391.
3. Thenmozhiyal, J.C., Wong, P.T., Chui, W-K. *J. Med. Chem*. **2004**, *47*, 1527.
4. Marton, J., Enisz, J., Hosztafi, S., Timar, T. *J. Agric. Food. Chem*. **1993**, *4*, 148-152.
5. Opačić, N., Barbarić, M., Zorc, B., Cetina, M., Nagl, A., Frković, D., Kralj, M., Pavelić, K., Balzarini, J., Andrei, G., Snoeck, R., De Clercq, E., Raić-Malić, S., Mintas, M. *J. Med. Chem*. **2005**, *48*, 475.
6. Hanessian, S., Sanceau, J.Y., Chemla, P. *Tetrahedron,* **1995**, *51*, 6669.
7. Comber, R.N., Reynolds, C.R., Friedrich, J.D., Manguikian, R.A., Buckheit, R.W., Truss, J.W., Shannon, W.M., Secrist, J.A., *J. Med. Chem*. **1992**, *35*, 3567.
8. Tompkins, J.E. *J. Med. Chem*. **1986**, *29*, 855.
9. Kieć-Kononowicz, K., Stadnicka, K., Mitka, A., Pękala, E., Filipek, B., Sapa, J., Zygmuntc, M. *Eur. J. Med. Chem*. **2003**, *38*, 555.
10. Harrison, C. *Nature Rev. Drug Disc.* **2009**, *8,* 452.
11. Shen H.C., Balk, S.P. *Cancer Cell*, **2009**, 15, 461
12. Park, K.H., Ehrler, J., Spoerri, H., Kurth, M.J. *J. Comb. Chem.* **2001**, *3*, 171.
13. Muccioli, G.G., Poupaerta, J.H., Wouters, J., Norberg, B., Poppitzc, W., Gerhard, K.E., Lambert, D.M. *Tetrahedron*, **2003**, *59*, 1301.
14. Vázquez, J., Royo, M., Albericio, F. *Lett. Org. Chem*. **2004**, *1*, 224.
15. Wang, Z.D., Sheikh, S.O., Zhang, Y.L. *Molecules,* **2006**, *11*, 739.
16. Reyes, S., Burgess, K. *J. Org. Chem*. **2006**, *71*, 2507.
17. Delgado, G,E., Mora, A.J., Uzcátegui, J., Bahsas, A., Briceño, A. *Acta Cryst*. **2007**, *C63*, o448.
18. Sulbaran, M.E., Delgado, G.E., Mora, A.J., Bahsas, A., Novoa de Armas, H., Blaton, N. *Acta Cryst*. **2007**, *C63*, o543.
19. Uzcátegui, M.C., Delgado, G.E., Mora, A.J., González, T., Briceño, A. *Acta Cryst*. **2009**, *E65*, o104.
20. Seijas, L.E., Mora, A.J., Delgado, G.E., Brunelli, M., Fitch, A.N. *Powder Diffr*. **2010**, *25*, 342.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

21. Delgado, G.E., Seijas, L.E., Mora, A.J. *J. Chem. Cryst*. **2012**, *42*, 968

22. Delgado, G.E., Mora, A.J., Contreras, J.E., Bruno-Colmenárez, J., Atencio, R. *Av. Quím*. **2013**, *8*, 59.

23. Seijas, L.E., Almeida, R., Mora, A.J., Delgado, G.E. *J. Comp. Methods Sci. Eng*. **2014**, *14*, 5.

24. Delgado, G.E., Varela, K.N., Araque, R.V., Rodríguez, J.A., Mora, A.J., Seijas. L.E. *Av. Quím*. **2014**, *49*, 3.

25. Delgado, G.E., Seijas, L.E., Mora, A.J., Almeida, R., González. T. *Mol. Cryst. Liq. Cryst*. **2015a**, *607*, 192.

26. Delgado, G.E., Mora, A.J., Contreras, J.E., Chacón. C. *Powder Diffr*. **2015b**, *30*, 178.

27. Delgado, G.E., Hernández, M.O., Mora, A.J., Bahsas, A., Lobaton, R., González T. *Mol. Cryst. Liq. Cryst*. **2015c**, *616*, 187.

28. Delgado, G.E., Rodríguez, J.A., Mora, A.J., Bruno-Colmenárez, J., Uzcátegui, J., Chacón, C. *Mol. Cryst. Liq. Cryst*. **2016**, *629*, 96.

29. Boultif, A., Louër, D. *J. App. Cryst.* **2004**, *37*, 724.

30. Le Bail, A. *Powder Diffr.* **2005**, *20*, 316.

31. Sheldrick, G.M. *Acta Cryst*. **2008**, *A64*, 112.

32. Sheldrick, G.M. *Acta Cryst*. **2015**, *C71*, 3.

33. Yoshioka, R. *Top. Curr. Chem.* **2007**, *269*, 83.

34. Groom, C.R., Allen, F.H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 662.

35. Etter, M.C. *Acc. Chem. Res*. **1990**, *23*, 120

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

SOROPREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO PARA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA EM ITAPORANGA-PB

SOROPREVALENCE AND RISK FACTRORS FOR CANINE VISCERAL LEISHMANIOSIS IN ITAPORANGA-PB

ALVES, Thiago Willame Barbosa[1*]; ANDRADE JÚNIOR, Francisco Patricio de[1]; BARBOSA, Vanessa Santos de Arruda[2]

[1] Universidade Federal do Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, Departamento de Farmácia, Olho D'água da Bica, S/N, cep 58175-000, Cuité – PB, Brasil
(fone: +55 83 99990-0111)

[2]Profª. Drª. Universidade Federal do Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, Departamento de Farmácia, Olho D'água da Bica, S/N, cep 58175-000, Cuité – PB, Brasil
(fone: +55 83 98102-9314)

** Autor correspondente*
e-mail: thiagofarmacia2013.2@outlook.com

Received 13 October 2018; received in revised form 13 December 2018; accepted 05 January 2018

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo analisar a epidemiologia da Leishmaniose Visceral Canina (LVC) do município de Itaporanga-PB entre os anos de 2015 e 2016. Foram recuperadas 180 fichas de notificação e investigação de cão suspeito depositadas na Secretaria Municipal de Saúde, na qual as variáveis foram analisadas usando o número absoluto e a frequência relativa, aplicando-se o teste de Qui-quadrado. A soroprevalência correspondeu a 13,3% quando associado as duas metodologias de diagnóstico: teste imunocromatográfico rápido (TR DPP®) e ELISA (EIE LCV). Dos 24 cães soropositivos, prevaleceram os machos (70,8%), sem raça definida (79,2%), área urbana (70,8%) e idade superior a dois anos (70,8%). A análise dos sinais clínicos revelou significância estatística e presença de risco entre alopecia (p= 0,001; OR= 7,474; RP= 4,237) e feridas múltiplas (p= 0,000; OR= 7,667; RP= 4,529) com soropositividade. A soroprevalência em Itaporanga-PB foi comparada a outros municípios da Paraíba, Nordeste e Brasil e as demais variáveis e fatores de risco foram discutidos com a literatura. Em virtude da situação epidemiológica da cidade, sugere-se a continuação da realização dos inquéritos sorológicos caninos nos anos subsequentes e a aplicação de outras medidas profiláticas para a parasitose.

Palavras-chave: *Leishmaniose visceral, Estudo soroepidemiológico, Doença de cão.*

ABSTRACT

The present study aimed to analyze the epidemiology of Visceral Canine Leishmaniasis (VCL) in the municipality of Itaporanga-PB between the years 2015 and 2016. 180 records of notification and investigation of suspected dogs deposited at the Municipal Health Department were retrieved, where the variables were analyzed using the absolute number and relative frequency, applying the chi-square test. The seroprevalence corresponded to 13,3% when associated to two diagnostic methodologies: rapid immunochromatographic test (TR DPP®) and ELISA (EI LCV). Of the 24 seropositive dogs, male (70,8%), undecided (79,2%), urban area (70,8%) and age greater than two years (70,8%) prevailed. The analysis of the clinical signs revealed statistical significance and presence of risk between alopecia (p= 0,001; OR= 7,474; PR= 4,237) and multiple wounds (p= 0,000; OR= 7,667; PR= 4,529) with seropositivity. Seroprevalence in Itaporanga-PB was compared to other municipalities in Paraíba, Northeast and Brazil, and the other variables and risk factors were discussed with the literature. Due to the epidemiological situation of the city, the continuation of canine serological surveys in subsequent years and the application of other prophylactic measures for parasitosis.

Keywords: *Visceral Leishmaniasis, Seroepidemiological study, Dog diseases.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral americana (LVA) ou calazar é uma doença parasitária causada pelo protozoário flagelado *Leishmania*. No Brasil apresenta caráter zoonótico, sendo transmitida entre animais e humanos através da picada do inseto flebotomíneo pertencente a espécie *Lutzomyia longipalpis* que é o principal vetor brasileiro (Costa, 2011). É um inseto pequeno, que costuma se reproduzir em solo úmido rico em matéria orgânica em decomposição sendo encontrado no peri e intradomicílio de várias cidades brasileiras (Schimming; Pinto; Silva, 2012).

A Organização Mundial de Saúde (OMS), estima que no mundo surjam cerca de 200 a 400 mil casos novos, com cerca de 20 mil mortes anualmente (OMS, 2017). A doença já foi registrada em 88 países, porém 90% dos casos se concentram na Índia, Bangladesh, Sudão e Brasil (Cavalcante; Vale, 2014). Na América Latina a LVA tem sido relatada desde o México à Argentina, com uma expansão no território brasileiro (Schimming; Pinto; Silva, 2012). Na Região Nordeste a parasitose adquire caráter endêmico e têm sido registrados muitos surtos epidêmicos (Cavalcante; Vale, 2014). O Estado da Paraíba apresentou 1.424 casos de 1990 a 2016 (Brasil, 2017) e coeficiente de incidência por 100.000 habitantes de 1,0% em 2015 (Brasil, 2016). São considerados fatores de risco para a doença: baixas condições socioeconômicas, desnutrição, migrações populacionais, mudanças ambientais e climáticas (OMS, 2017).

A Paraíba é uma região endêmica no Brasil e no Nordeste para LVA, acometendo principalmente populações desfavoráveis economicamente. Dentre os municípios paraibanos, Itaporanga é considerada uma área endêmica, onde 40,8% dos casos de LVA se concentram no alto oeste do estado (Farias et al., 2009). De 2001 a 2009, foram confirmados cinco casos de leishmaniose em humanos em Itaporanga. Nos dois últimos anos mais três caso humano foi registrado nas proximidades do município, segundo a Secretaria Municipal de Saúde (SMS) de Itaporanga (INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO MUNICIPAL E ESTADUAL DA PARAÍBA, 2016). Portanto é de extrema importância o acompanhamento, tratamento dos pacientes e dos animais e combate aos flebotomíneos.

Os cães têm um importante papel na cadeia epidemiológica da LVA, pois eles são apontados como o principal reservatório nas áreas urbanas, servindo de fonte de infecção para os flebotomíneos (Costa, 2011; Pelissari et al., 2011). No âmbito silvestre, os lobos, coiotes e raposas, também servem de reservatórios para os parasitos, abrangendo ainda mais a área de transmissão e continuação do ciclo biológico do protozoário (Silva, 2007; Silva et al., 2010).

As leishmanioses tendem a ter um grande espectro de manifestações clínicas, as quais são relacionadas com à espécie de *Leishmania* envolvida com a contaminação dos humanos e dos vários outros mamíferos reservatórios (Shaw; Further, 2006; Brasil; 2006; Faria; Andrade, 2012). Os cães, podem apresentar diferentes quadros clínicos para a LVA, tendo sintomatologias variadas (assintomáticos, oligossintomáticos e polissintomáticos), onde os assintomáticos geram um maior risco para a população, já que os mesmos podem ser fontes de infecção para os flebotomíneos, mesmo sem apresentar qualquer sintoma da doença (Silva, 2007; Almeida et al., 2009).

A enzootia canina tem precedido a ocorrência de casos humanos e a infecção em cães tem sido mais prevalente que no homem (Brasil, 2006). Devido a esse fator, a Leishmaniose Visceral Canina (LVC) vem sendo investigada em seus aspectos epidemiológicos, ambientais e sociais, buscando-se formas de minimizar a sua expansão (Seixas et al., 2012).

No Brasil, o Ministério da Saúde (MS) preconiza duas técnicas sorológicas para o diagnóstico e confirmação da leishmaniose no país, sendo aplicado o teste imunocromatográfico (TR DPP®) e ELISA (do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* ou ensaio de imunoabsorção enzimática), onde o primeiro é um teste rápido utilizado na triagem dos cães e o segundo é o teste confirmatório (Brasil, 2006; Brasil, 2015). Torna-se necessário a realização de inquéritos sorológicos caninos, o qual tem o principal objetivo identificar os focos silenciosos da doença e delimitar as regiões de maior prevalência, sendo o controle desses reservatórios caninos, uma das medidas profiláticas (Almeida et al., 2009; Brasil, 2015).

Diante desse contexto, objetivou-se fazer a análise da soroprevalência da LVC no município de Itaporanga-PB e avaliar as variáveis de risco para os animais infectados. O conhecimento dos fatores epidemiológicos

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

incriminados na infecção canina pode subsidiar as medidas de controle da parasitose nessa região.

DESENVOLVIMENTO

2.1. Tipo de estudo

Trata-se de um estudo epidemiológico, descritivo e retrospectivo da prevalência sorológica e fatores de risco da LVC na cidade Itaporanga-PB nos anos de 2015 e 2016. Foram utilizados dados secundários das Fichas de Notificação e Investigação de Cão Suspeito depositadas na Secretaria Municipal de Saúde (SMS).

2.2. Área de estudo

Itaporanga (07° 18’ 16” S e 38° 09’ 01” W) é a cidade mais importante do Vale do Piancó, localizada na mesorregião do Sertão Paraibano. Possui área territorial de 468,060 km², densidade 49,55 hab./km² e IDHM de 0,615 em 2010. Sua altitude é de 289 m, distando 429,2 Km da capital João Pessoa. Seus municípios limítrofes são: ao norte Aguiar e Igaracy; ao sul: Diamante, Boa Ventura e Pedra Branca; a leste: Piancó e Santana dos Garrotes; a oeste: São José de Caiana e Serra Grande. De acordo com o censo do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) em 2016 sua população era de 24.674 habitantes. A cidade está inserida no bioma caatinga e apresenta clima semiárido (IBGE, 2017).

2.3.Levantamento dos Dados e Variáveis Analisadas

Baseado nas informações contidas no banco de dados, o qual foi formado por 180 Fichas de Identificação Individual do Animal da SMS do município de Itaporanga-PB, foram analisadas as seguintes variáveis: resultado da sorologia para LVC pelo método imunocromatográfico rápido e pelo método de ELISA, idade, raça, sexo, procedência, bairro e condição de domicialização; tempo de residência no endereço atual, resultado das análises clínicas para se verificar a presença de sinais clínicos sugestivos de LVC. Quando a triagem dos caninos foi positiva no TR DPP®, a SMS de Itaporanga recolheu amostras desses cães e encaminhou para o LACEN-PB, onde foi realizado o teste confirmatório pelo método de pelo método de enzimaimunoensaio (EIE LCV).

Foram considerados como soropositivos os cães que apresentam os dois testes positivos: imunocromatográfico (+) e ELISA (+). Já os cães soronegativos, foram os que apresentaram um teste ou ambos os testes negativos, que tiveram um teste não realizado e os cães que tiveram ELISA inconclusivo: imunocromatográfico (+) e ELISA (-), imunocromatográfico (-) ELISA (+); imunocromatográfico (+) e ELISA (-), imunocromatográfico (-) e ELISA não realizado, imunocromatográfico (-) e ELISA (-), imunocromatográfico (-) e ELISA inconclusivo. Os cães que não tiveram nenhum dos testes realizados foram excluídos da pesquisa.

2.4. Análise dos Dados e Tratamento Estatístico

Foram realizadas análises descritivas utilizando-se o número absoluto e a frequência relativa das variáveis. Para testar hipóteses e verificar a associação entre as variáveis, foi aplicado o Teste Qui-quadrado e os valores de $p<0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. Quando a frequência foi menor que 5, o Teste de Qui-quadrado não foi aplicado. Foi calculada a Odds ratio (OR) e a Razão de Prevalência (RP) e seu respectivo Intervalo de Confiança (IC) como medida de associação. A análise estatística foi realizada utilizando-se o *software Statistical Package for Social Sciences* (SPSS), versão 13.0. *for Windows*.

RESULTADOS

A porcentagem de cães positivos, utilizando as duas metodologias de testes (teste rápido DPP® e ELISA), foi de 13,3% na cidade de Itaporanga-PB. A tabela 1 mostra o perfil sorológico dos animais investigados no município de Itaporanga-PB entre os anos de 2015 e 2016.

As fichas dos cães que não fizeram nenhuma sorologia foram descartadas das análises das variáveis de risco para infecção, correspondendo a 5% das 180 fichas analisadas. A soroprevalência observada, quando os dois testes foram positivos correspondeu a 13,3%, sendo esses animais eutanasiados pela SMS. Já os que não foram reagentes nos dois testes ou reagentes em apenas um dos testes ou ainda apresentou resultados inconclusivos ou não realizados no ELISA acompanhado de TR-DPP® (-) foi considerado negativo (81,7%) (Tabela 2).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Do total de 24 cães soropositivos, os machos foram mais prevalentes (70,8%) e os cães com idade superior a 2 anos (cães adultos) (70,8%). Quanto a raça, 79,2% dos cães soropositivos era sem raça definida (SRD). Os cães de cor amarela tiveram um percentual de 41,7%. A tabela 3 mostra a associação entre as variáveis citadas anteriormente e a soroprevalência. Foi encontrada associação estatisticamente significativas entre a variável cor e a soroprevalência.

Do total de cães positivos (24), pode-se perceber que 87,5% eram domiciliados, 70,8% dos cães já moravam no mesmo endereço, a mais de 2 anos e 70,8% eram de área urbana. A tabela 4 retrata as variáveis referentes ao espaço onde os cães foram encontrados e a soroprevalência.

Observou-se que 8,3% dos cães soropositivos para LVC, tinham se vacinado. 58,3% dos cães positivos para LVC não possuíam sintomas. Cerca de 87,5% dos soropositivos convivia com outros cães e 50% dos animais de convívio eram sadios.

Dos 24 bairros e sítios de onde foram triados os cães, 37,5% dessas localidades apresentaram um ou mais cães soropositivos. A figura 1 mostra os bairros e sítios onde foram confirmados casos de LVC, sendo o Chaga Soares (20,8%) e Centro (20,8%) os de maior prevalência de cães soropositivos.

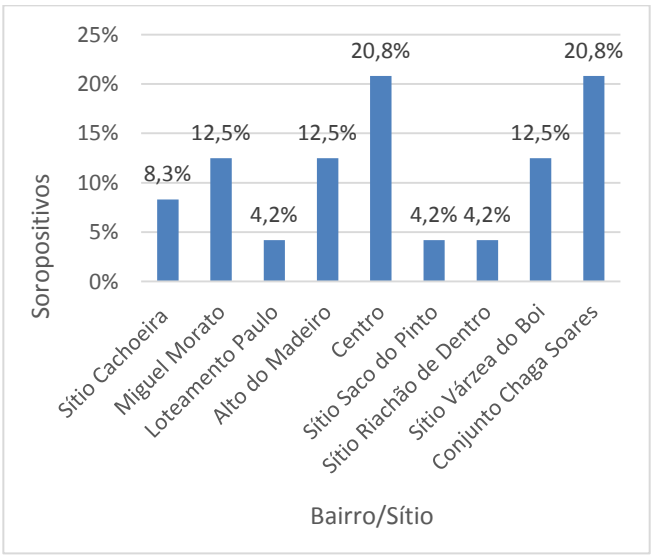


***Figura 1**. Distribuição dos cães soropositivos para LVC por regiões do município de Itaporanga-PB em 2015-2016.*

Quando analisado os sinais clínicos dos cães, observou-se que 100% dos soropositivos não apresentaram apatia. 16,7% eram caquéticos, 20,8% tinham alopecia, 33,3% feridas múltiplas, principalmente ao redor dos olhos e abdômen e 20,8% apresentaram unhas crescidas. A tabela 5 mostra a associação entre os sinais clínicos e soroprevalência, sendo encontradas associações estatisticamente significativas entre as variáveis alopecia e feridas múltiplas e soroprevalência.

DISCUSSÃO

No presente estudo pode-se observar que 13,3% dos cães tiveram diagnóstico positivo para LVC pelo teste TR DPP® associado ao EIE LVC, se assemelhando a outros municípios brasileiros (Barbosa et al., 2006; Silva et al., 2010; Fernandes et al., 2016). No município de Camaçari-BA, de 358 cães testados, 14,8% foram positivos pelo teste de ELISA indireto (Silva et al., 2010). Já na cidade de Patos-PB, de 206 cães testados, 18,4% foram positivos para LVC, através da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e ELISA. Em Lauro de Freitas-BA e Camaçari-BA, observou que 18,4% de 147 cães, tiveram sorologia positiva pelo ELISA indireto (Barbosa et al., 2006). Observando que esses municípios tiveram soroprevalência próximas ao município de Itaporanga-PB.

Na Paraíba a análise sorológica de 1.043 cães de João Pessoa, Campina Grande, Patos, Sousa e Cajazeiras, mostrou uma média de soropositividade correspondente a 7,8%, pelo método de ELISA e RIFI (FERNANDES et al., 2016), inferior ao encontrado em Itaporanga (14,4%). Soroprevalência menores foram encontradas nos municípios de João Pessoa (5,9%), Campina Grande (3,6%), Sousa (7,2%) e Cajazeiras (4%) (Fernandes et al., 2016) quando comparado a cidade de Itaporanga.

Soroprevalências maiores a de Itaporanga-PB, foram encontradas em São Luís - MA, onde 67% de 100 cães estavam positivos pelo método de RIFI (Barbosa et al., 2010). Em Mossoró - RN, de 139 cães, 28% foram positivos pelo método de ELISA (Matos et al., 2006). Em Cuiabá-MG, de 150 cães, 38% estavam positivos, pelo método de ELISA indireto (Almeida; Mendonça; Sousa, 2010). Em cidades do estado de São Paulo: Buritama de 100 cães, 34% foram positivos para LVC pelo método de ELISA, em Guararapes, de 100 cães, 32% foram positivos pelo ELISA, em Mirandópolis de 99 cães 29,2% tiveram ELISA positivo e em

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Penápolis de 100 cães, 27% apresentaram ELISA positivo (Bisugo et al., 2007).

Foi observado que o sexo não apresentou associação estatística com a infecção, sendo observado também nos estudos de Cardoso et al., (2004) Santos (2007) e Silva et al., (2010). Resultados semelhantes foram encontrados no distrito de Monte Gordo, Camaçari - BA e no estado de Pernambuco, onde a maior prevalência foi em cães machos (57,8% e 51,6%, respectivamente) não havendo associação estatística (Dantas-Torres; Brito; Brandão-Filho, 2006; Silva et al., 2010). A variável raça não evidenciou nenhum tipo de associação com a soroprevalência, porém em estudo de França-Silva et al., (2003) na cidade de Montes Claros-MG, pode-se observar uma elevada soroprevalência em cães da raça Cocker spaniel (26,9%) e Boxer (24,6%), não havendo associação estatística nesse estudo.

O presente estudo demostrou que a faixa etária adulta (> 2 anos), obteve o maior número de cães positivos para LVC (70,8%). Resultados divergentes foram encontrados na cidade de Montes Claros-MG, onde a faixa etária de 0 – 6 meses foi a que obteve o maior percentual de cães positivos para LVC 36,7% (1.213 cães) (França-Silva et al., 2003) e no estado de Pernambuco que dos 322 cães a maior prevalência foi em cães jovens (< 1 ano) (p= 0,039) (Dantas-Torres; Brito; Brandão-Filho, 2006). Em estudo no Condado de Split-Dalmatia, Croácia com 306 cães, houve associação estatística (p= 0,03) em cães com idades entre 3 – 4 anos e 6 – 7 anos, constatando que essas faixas etárias são mais propicias a adquirir a parasitose (Zivicnjak et al., 2005). Porém em Alijó, Portugal de 1540 cães, observou-se significância estatística considerável (p= 0,001) em animais mais velhos (9 – 11 anos) (Cardoso et al., 2004).

A variável cor do pelo dos cães, teve a cor amarela (41,7%) com o maior percentual de soropositivos, havendo significância estatística (p = 0,036). Resultado divergente foi observado na cidade de Goiana–PE, onde não houve associação estatista significativa entre a cor do pelo (p= 0,226) dos cães e a probabilidade dos mesmos adquirirem a doença, sendo a pelagem de cor clara (65,6%) a mais prevalente nesse município (Andrade, 2014). Já na cidade de Birigui, estado de São Paulo, foi observado que a maioria dos cães positivos para LVC, possuía coloração da pelagem mais escura (cinza, marrom, marrom/preto e preto), sendo a cor marrom (38,2%) e preta (29,8%) as que apresentaram o maior número de cães positivos para LVC (Vigilato, 2004).

Quando analisado a condição de domicialização dos cães observou-se que a maioria dos cães positivos para LVC eram domiciliados (87,5%) se diferenciando do estudo de Rondon et al., (2008) realizado em Fortaleza-CE, onde o percentual de cães domiciliados soropositivos correspondeu a 26,2%. Já em Goiana-PE de 360 cães testados nos teste rápido DPP® e EIE LVC, verificou-se que os domiciliados corresponderam a 3,9% (Andrade, 2014), sendo bem inferior ao encontrado em Itaporanga.

Quanto a localização o Chaga Soares e Centro foram os bairros que tiveram a maior prevalência de cães positivos. A variável tempo de residência, demostrou que 79,8% dos soropositivos moravam no mesmo endereço a mais de dois anos. Já em Goiana-PE, foi observado que cães (n= 360) com mais de um ano de residência, foram mais soropositivos (4,5%), porém sem associação estatística (p= 0,611) (Andrade, 2014).

A procedência (área), onde os cães foram encontrados demostrou que a área urbana apresentou o maior número de cães soropositivos (70,8%). No Rio Grande do Norte, na cidade de Mossoró foi observado que a procedência dos animais, foi maior na zona rural (45%) de que na zona urbana (35%) (Amóra et al., 2006). Segundo Bevilacqua et al., (2001) a leishmaniose visceral, é uma parasitose que vem se urbanizando no decorrer dos últimos anos, encontrando nesse ambiente condições propícias ao seu desenvolvimento. Em Itaporanga foi possível observar essa urbanização, pois a maioria dos cães positivos para LVC foram encontrados na zona urbana (70,8%), se assemelhando as cidades de Belo Horizonte-MG, Rio de Janeiro-RJ e São Luís-MA, não sendo evidenciado diferença estatisticamente significativa nas respectivas cidades (Brevilacqua et al., 2001; Marzochi et al., 1985; Barbosa et al., 2010).

Observou-se que 91,7% dos cães soropositivos não eram vacinados porém em estudo de Gontijo e Melo (2004) a prevenção da LVC nos cães através da imunoprofilaxia aparece como uma alternativa para o controle da doença, porém as vacinas descritas na literatura não mostraram eficácia na prevenção da LVC. Já

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

o Ministério da Saúde (2017), preconiza a utilização da vacina antileishmaniose visceral canina, que está em comercialização no Brasil, no entanto a vacina está indicada para os animais assintomáticos com resultados sorológicos não reagentes para LV, porém os animais que apresentarem sinais clínicos compatíveis com LVC e/ou reações sorológicas reagentes estarão passíveis das medidas sanitárias vigentes.

Na variável sintomas foi observado que 58,8% dos animais positivos para LVC eram assintomáticos. Já na cidade de Goiana-PE foi observado associação estatística significativa (p= 0,001), onde 1,9% (n= 208) dos cães eram positivos para LVC, porém assintomáticos (Andrade, 2014). Na cidade de Paulista-SP observou que 88,5% (n= 322) dos animais apresentaram-se assintomáticos para a doença (Dantas-Torres; Brito; Brandão-Filho, 2006).

Foi observado que a maioria dos cães soropositivos da pesquisa convivia com outros animais (87,5%), mas é importante ressaltar que 50% dos cães positivos para LVC, convivia com animais sadios. Em estudo de Barboza et al., (2006) na cidade de Salvador-BA com 147 cães, foi observado que o convivo com galinhas (p= 0,04), porcos (p= 0,02) e cães infectados com LVC (p= 0,01), aumentam as chances dos cães sadios adquirirem LVC. Já Cabrera et al., (2003) observou em uma área com casos caninos de LV, na cidade do Rio de Janeiro, que os cães pertencentes as casas onde marsupiais foram encontrados, estavam expostos a um risco 2,6 vezes maior de infecção por *Leishmania* spp.

Em relação aos sinais clínicos mais frequentes encontrados entre os cães sintomáticos no município de Itaporanga-PB foi: caquexia, alopecia, feridas múltiplas e unhas crescidas. Já Gonçalves (2010), na cidade de Cuiabá-MT, relatou como sintomas clínicos na identificação de cães com LV: descamação, alopecia, úlceras (principalmente nas orelhas), caquexia, onicogrifose, ceratoconjuntivite e mucosas oculares hipocoradas, sendo encontrado comportamento semelhante por Quaresma et al., (2009) na cidade de Belo Horizonte-MG. Já em Natal, Queiroz et al., (2009) encontraram como sinais clínicos: emagrecimento, conjuntivite e onicogrifose, lesões crostosas, alopecia, lesões ulceradas, hiperqueratose e descamação. Em Minas Gerais, Castro-Júnior et al., (2014) observou que onicogrifose como o sinal clínico mais prevalente.

No que se refere ao comportamento dos animais analisados, a apatia não foi encontrada em 100% dos cães soropositivos, porém na cidade de Camaçari-BA, Silva et al., (2010) observou que esse sintoma era sugestivo da doença, pois provavelmente era provocada pelas dores articulares que acometia os animais ou até mesmo pela anemia, levando aos mesmos a ficarem o maior tempo em repouso. Já Mattos Júnior et al., (2004) detectou frequência de positividade para LVC, em 22,2% dos animais soropositivos que apresentaram apatia como sintoma clínico, na cidade de Niterói-RJ, em 3 cães que apresentaram o sintoma.

A caquexia (16,7%) juntamente com a alopecia (20,8%) foi um dos sinais clínicos mais observados nos animais soropositivos do município de Itaporanga, sendo esse último fator estatisticamente significativo (p = 0,001), demostrando que o risco dos cães apresentarem esse sintoma é quatro vezes maior. Andrade (2014), em Goiana-PE, observou que 66,7% (n= 3; p= 0,007) dos cães positivos no teste TR-DPP e EIE LVC, eram caquéticos e 19,5% (n= 41; p= 0,001) apresentavam alopecia, encontrando significância estatística. A caquexia pode ser explicada por conta do processo inflamatório causada pelo parasita, no aparelho digestivo do animal, sinalizando o estado de cronicidade da doença (Mattos-Júnior et al., 2004; Coutinho, 2005).

Na cidade de Itaporanga-PB, outros fatores de risco foram analisados: feridas múltiplas (33,3%) e unhas crescidas (20,8%) nos cães sorologicamente positivos, porém a onicogrifose é uma alteração clínica muito relatada em animais infectados pelo *Leishmania* spp., sendo observada em vários estudos, como um dos sinais clínicos patognomônicos da doença (Mattos-Júnior et al., 2004; Silva et al., 2010). Na cidade de Camaçari-BA, foi observado que 26,4% (n= 121) dos cães soropositivos estavam com as unhas crescidas (Silva et al., 2010).

Houve associação estatística entre feridas múltiplas (p= 0,000) e os cães positivos para LVC, sendo observado um risco quatro vezes maior desses apresentarem esse sintoma. Na cidade de Goiana-PE, foi observado que 14,8% (n= 27; p= 0,019) dos cães positivos para LVC, apresentaram onicogrifose e 19,2% (n= 52; p= 0,001) apresentaram lesões no corpo (Andrade, 2014). As feridas múltiplas, foram observadas por outros autores, sendo observado que a LVC

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

está fortemente associada as alterações dermatológicas desses animais (Gonçalves, 2010; Quaresma et al., 2009).

CONCLUSÕES:

A LVC está presente na cidade de Itaporanga-PB, com soroprevalência relativamente alta (13,3% no TR DPP® em associação ao EIE LVC) quando comparada a outras cidades da Paraíba, porém quando comparada a outras cidades do Nordeste e do Brasil, pode-se perceber que esse parâmetro se inverte, podendo ser relacionado com a localização geográfica dos municípios, fatores climáticos e socioeconómicos da população.

Foi observado que o repertório de sinais clínicos em cães soropositivos é bastante diversificado, sendo os problemas dermatológicos os mais recorrentes. Nos dois anos (2015 e 2016) investigados, foi realizado o inquérito sorológico e a Secretaria Municipal de Saúde adotou as Ficha de Investigação do Cão Suspeito. Em virtude da situação epidemiológica da cidade, sugere-se a continuação da realização dos inquéritos sorológicos nos anos subsequentes e o investimento em novos estudos na cidade de Itaporanga-PB, já que esse estudo é inédito para o município, os quais ajudam nas notificações e no combate dos casos de Leishmaniose Visceral Canina.

AGRADECIMENTOS:

Ao CNPq pela bolsa.

REFERÊNCIAS:

1. Costa CHN. How effective is dog culling in contralling zoonotic visceral leishmniasis? A critical evaluation of the Science, politics and ethics behind this public health policy. *Rev Soc Bras Med Trop* **2011**; 44: p. 232-*42*.
2. Schimming BC, Pinto e Silva JRC. Leismaniose visceral canina – revisão de literatura. Rev Cient Eletrônica Med Vet **2012**; 10: 1-*17.*
3. World Health Organition. Leishmaniasis. **2017**. [citado em 15 Dez de 2017]. Disponível em: http://www.who.int/mediacentre/factsheets /fs375/en/.
4. Cavalcante IJM, Vale MR. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral (calazar) no Ceará no período de 2007 a 2011. *Rev Bras Epidemiol* **2014**; 17: 911-*24*.
5. Brasil. Ministério da Saúde. Casos confirmados de Leishmaniose Visceral. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1990 a 2016. **2017**. [citado em 25 de Fev 2018]. Disponível em: http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/novembro/08/LV-Casos.pdf
6. Brasil. Ministério da Saúde. Coeficiente de incidência de Leishmaniose Visceral, por 100.000 habitantes. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1990 a 2015. **2016**. [citado em 25 de Fev de 2018]. Disponível em: http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/novembro/08/LVCoeficiente%20de%20Incidncia.pdf
7. Farias LXN, Carvalho LLF, Barbosa TM, Onofre LB, Amador DD, Almeida RA, et al. Um olhar sobre a notificação compulsória da leishmaniose na PB em 2007 [resumos]. XI Encontro de Iniciação à Docência da UFPB (ENEX), João Pessoa-PB; **2009**. p. 12.
8. Instituto de Desenvolvimento Municipal e Estadual da Paraíba. Relatório dinâmicos: indicadores municipais. **2016**. [citado em 20 de Mar de 2017]. Disponível em: http://ideme.pb.gov.br/objetivos-do-milenio/itaporanga.pdf/view
9. Pelissari DM, Cechinel MP, Sousa-Gomes ML, Lima Júnior FEF. Tratamento da Leishmaniose Visceral e Leishmaniose Tegumentar Americana no Brasil. *Epidemiol Serv Saúde* **2011**; 20: 107-10.
10. Silva FTS, Santos JT, Netto EM, Bavia ME, Nakatani M, Souza FDP, et al. Aspectos Clínicos da Leishmaniose Visceral Canina no Distrito de Monte Gordo, Camaçari (Ba). *Rev B S Pública Miolo* **2010**; *34*: 783-95.
11. Silva SF. Patologia e patogênese da leishmaniose visceral canina. *R Trop: Ci agr biol* **2007**; 1: 20-31.
12. Shaw JJ. Further thoughts on the use of the name Leishmania (Leishmania)

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

infantum chagasi for the aetiological agent of American visceral leishmaniasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* **2006**; 101: 577-579.

13. Faria AR, Andrade HM. Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina: grandes avanços tecnológicos e baixa aplicação prática. *Rev Pan-Amaz Saude* **2012**; 3: 47-57.
14. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral, **2006**. [citado em 10 de Jan de 2018]. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_visceral.pdf
15. Almeida ABPF, Farias RP, Pimentel MFA, Dahroug MAA, Turbina NCMR, Sousa VRF. Inquérito soroepidemiológico de leishmaniose canina em áreas endêmicas de Cuiabá, Estado de Mato Grosso. *Rev Soc Bras Med Trop* **2009**; 42: 156-9.
16. Seixas MM, Magalhões Junior JT, Franke CR, Barrouin-Melo SM. Positividade para Leishmaniose Visceral Canina: existem fatores caninos que contribuem? *Rev B S Pública Miolo* **2012**; 36: 358-67.
17. Estado de Santa Catarina. Diretoria de Vigilância Epidemiológica. Guia de orientação para vigilância de leishmaniose visceral canina (LVC), **2015**. [citado em 25 de Fev de 2018]. Disponível em: http://www.dive.sc.gov.br/conteudos/zoonoses/publicacoes/Guia_Basico_de_Orientacao_LVC_2015.pdf
18. Julião FS, Sousa BMPS, Freitas DS, Oliveira LS, Larangéira DF, Dias-Lima AG, et al. Investigação de áreas de risco como metodologia complementar ao controle da Leishmaniose Visceral Canina. *Pesq Vet Bras* **2007**; 27: 319-24.
19. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Paraíba – Itaporanga. **2017**. [citado em 10 de Nov de 2017]. Disponível em: https://cidades.ibge.gov.br/v4/brasil/pb/itaporanga/panorama
20. Barboza DCPM, Gomes Neto CMB, Leal DC, Bittencourt DVV, Carneiro AJB, Souza LS et al. Estudo de coorte em áreas de risco para leishmaniose visceral canina, em municípios da Região Metropolitana de Salvador, Bahia, Brasil. *Rev Bras Saúde Prod Na* **2006**; 7: 152-163.
21. Fernandes ARF, Pimenta CLRM, Vidal IF, Oliveira GC, Sartori RS, Araújo RA, et al. Risk factors associated with seropositivity for Leishmania spp. and Trypanosoma cruzi in dogs in the state of Paraiba, Brazil. *Rev Bras Parasitol Veterinária* **2016**; 25:90-98.
22. Barbosa DS, Rocha AL, Santana AA, Souza CSF, Dias RA, Costa-Júnior LM, et al. Soroprevalência e variáveis epidemiológicas associadas à leishmaniose visceral canina em área endêmica no município de São Luís, Maranhão, Brasil. *Ci Anim Bras* **2010**; 11:653-659.
23. Matos MM, Filgueira KD, Amora SSA, Suassuna ACD, Ahid SMM, Alves ND. Ocorrência da Leishmaniose Visceral em cães em Mossoró, Rio Grande do Norte. *Ci Animal* **2006**; 16: 51-54.
24. Almeida ABPF, Mendonça AJ, Sousa VRF. Prevalência e epidemiologia da leishmaniose visceral em cães e humanos, na cidade de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. *Rev Ci Rural* **2010**; 40: 1610-1615.
25. Bisugo MC, Laraújo MFL, Taniguchi HH, Acunha E, Santos AA, Spessoto Júnior M, et al. Avaliação do diagnóstico da leishmaniose visceral canina com a utilização de teste rápido com antígeno recombinante K39 em regiões endêmicas do estado de São Paulo. *Rev Inst Adolfo Lutz* **2007**; 66: 185-193.
26. Cardoso L, Rodrigues M, Santos H, Schoone GJ, Carreta P, Varejão E, et al. Sero-epidemiological study of canine Leishmania spp. infection in the municipality of Alijó (Alto Douro, Portugal). *Vet Parasitol* **2004**; 121: 21-32.
27. Santos JT. Geotecnologias e uso da análise espacial Bayesiana no estudo das taxas de soroprevalência para Leishmaniose Visceral Americana nas populações humana e canina na área urbana da cidade de Jacobina, Bahia. [Dissertação de Mestrado], Salvador:

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Universidade Federal da Bahia, UFBA, Brasil; **2007**.

28. Dantas-Torres F, Brito MEF, Brandão-Filho SP. Soroepidemiological survey on canine leishmaniasis among dogs from na urban area of Brazil. *Vet Parasitol* **2006**; 140: 54-60.
29. França-Silva JC, Costa RT, Siqueira AM, Machado-Coelho GLL, Costa CA, Mayrick W, et al. Epidemiology of canine visceral leishmaniosis in the endemic área of Montes Claros Municipality, Minas Gerais State, Brazil. *Vet Parasitol* **2003**; 111:161-173.
30. Zivicnjak T, Martinkovic F, Marinculic A, Mrljak V, Kucer N, Matijatko V, et al. A seroepidemiologic survey of canine visceral leishmaniosis among apparently healthy dogs in Croatia. *Vet Parasitol* **2005**; 131: 35-43.
31. Andrade TAS. Soroprevalência, fatores e aspectos clínicos associados à leishmaniose visceral canina em Goiana, Estado de Pernambuco, Brasil. [Dissertação de Mestrado], Recife: Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Brasil; **2014**.
32. Vigilato MAN. Distribuição espacial da leishmaniose visceral canina e humana no município de Birigui-SP. [Dissertação de Mestrado], Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/ Universidade Estadual Paulista, FMVZ/USP; **2004**.
33. Rondon FCM, Bevilaqua CML, Franke CR, Barros RS, Oliveira FR, Alcântara AC, et al. Cross-sectional serological study of canine Leishmania infection in Fortaleza, Ceará state, Brazil. *Vet Parasitol* **2008**; 155: 24-31.
34. Amóra SSA, Santos MJP, Alves ND, Costa SCG, Calabrese KS, Monteiro AJ, et al. Fatores relacionados com a positividade de cães para leishmaniose visceral em área endêmica do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. *Ci Rural* **2006**; 36: 1854-1859.
35. Bevilacqua PD, Paixão HH, Modena CM, Castro MCPS. Urbanização da leishmaniose visceral em Belo Horizonte. *Arq Bras Med Vet Zootec* **2001**; 53: 1-8.
36. Marzochi MCA, Coutinho SG, Sabroza PC, Souza MA, Souza PP, Toledo LM, et al. Leishmaniose visceral canina no Rio de Janeiro – Brasil. *Cad Saúde Pública* **1985**; 1: 432-446.
37. Gontijo CMF, Melo MN. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro clínico, desafios e perspectivas. *Rev Bras Epidemiol* **2004**; 7: 338-349.
38. Brasil. Ministério da Saúde. SVS Leishmaniose Visceral, **2017**. [citado em 25 de Fev de 2018]. Disponível em: http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/oministerio/principal/secretarias/svs/leishmaniose-visceral-lv.
39. Cabrera MAA, Paula AA, Camacho LAB, Marzochi MCA, Xavier SC, Silva AVM, et al. Canine visceral leishmaniasis in Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brazil: assenssment of risk factors. *Rev Inst Med Trop S Paulo* **2003**; 45: 79-83.
40. Gonçalves BS. Leishmaniose visceral canina na área urbana de Cuiabá – MT: Comparação de técnicas laboratoriais, tentativa de desenvolvimento de metodologia para diagnóstico e caracterização da espécie de Leishmania circulante em amostra selecionada. [Dissertação de Mestrado], Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, ENSPSA, Brasil; **2010**.
41. Quaresma PF, Murta SM, Ferreira Ede C, Rocha-Lima AC, Xavier AA, Gontijo CM. Molecular diagnosis of canine visceral leishmaniasis: identification of Leishmania species by PCR-RFLP and quantification of parasite DNA by real-time PCR. *Acta Trop* **2009**; 111: 289-294.
42. Queiroz PVS, Monteiro GR, Macedo VP, Rocha MA, Batista LM, Queiroz JW, et al. Canine visceral leishmaniasis in urban and rural áreas of Northeast Brazil. *Res Vet Sci* **2009**; 86: 267-273.
43. Castro-Júnior JG, Freire ML, Campos SPS, Scopel KKG, Porrozzi R, Silva ED, et al. Evidence of Leishmania (Leishmania) infantum infection in dogs from Juiz de Fora, Minas Gerais State, Brazil, based on immunochormatographic Dual-Path Platfrom (DPP®) and PCR assays. *Rev Inst Med Trop S Paulo* **2014**;

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

56: 225-229.

44. Mattos-Júnior DG, Pinheiro JM, Menezes RC, Costa DA. Aspectos clínicos e de laboratório de cães soropositivos para a Leishmaniose. *Arq Bras Med Vet Zootec* **2004**; 56: 119-122.

45. Coutinho JFV. Estudo clínico-laboratorial e histopatológico de cães naturalmente infectados por Leishmanisa chagasi com diferentes graus de manifestação física. [Dissertação de Mestrado], Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte, UFRN, Brasil; **2005**.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

***Tabela 1**. Perfil sorológico dos cães suspeitos de Leishmaniose Visceral Canina (LVC) em Itaporanga-PB em 2015-2016.*

Categoria	Frequência	Percentual
Perfil Sorológico	**N**	**%**
TR- DPP® (+) ELISA (+)	24	13,3
TR- DPP® (-) ELISA (+)	2	1,1
TR- DPP® (+) ELISA (-)	17	9,4
TR- DPP® (-) ELISA (-)	31	17,3
TR- DPP® (-) ELISA IC*	4	2,2
TR- DPP® (-) ELISA NR	93	51,7
Testes NR**	9	5,0
Total	180	100

*IC – Inconclusivo, **NR – Não Realizado.
Fonte: Dados da pesquisa.

***Tabela 2.** Percentual de cães soropositivos e soronegativos para Leishmaniose Visceral Canina em Itaporanga-PB em 2015-2016.*

Categoria	Frequência	Percentual
Perfil Sorológico	**N**	**%**
Soropositivos	24	13,3
Soronegativos	147	81,7
Descartados	9	5,0
Total	180	100

Fonte: Dados da pesquisa.

***Tabela 3**. Associação entre variáveis sobre as características dos animais e a soroprevalência em cães de Itaporanga-PB em 2015-2016.*

Categoria	Soroprevalência				Valor p	OR* IC 95%	RP** IC 95%
	Positivo		Negativo				
	N	%	N	%			
Sexo							
Macho	17	70,8	98	66,7			
Fêmea	7	29,2	49	33,3	0,687		
Total	24	100	147	100			
Idade							
< 2 anos	5	20,8	42	27,9			
> 2 anos	17	70,8	92	62,6	***		
Não Informado	2	8,4	14	9,5			
Total	24	100	147	100			
Raça							
SRD****	19	79,2	135	56,5			
CRD*****	5	20,8	12	8,2	0,054		
Total	24	100	147	100			
Cor da pelagem							
Amarela	10	41,7	32	21,8		2,567	2,194
Outras	14	58,3	64	78,2	0,036	(1,04 – 6,32)	(1,05 – 4,57)
Total	24	100	147	100			

*Odds ratio **Razão de Prevalência ***Sem aplicabilidade do Qui-quadrado ****Sem raça definida *****Com raça definida.
Fonte: Dados da pesquisa.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 4*. Condição de domicialização, tempo de residência e procedência em relação a soroprevalência de cães de Itaporanga -PB entre os anos de 2015-2016.*

	Soroprevalência				Valor p
	Positivo		Negativo		
Categoria	N	%	N	%	*p*
Condição de domicialização					
Domiciliado	21	87,5	140	95,2	***
Errante	3	12,5	7	4,8	
Total	24	100	147	100	
Tempo de residência					
< 2 anos	7	29,2	52	35,4	
> 2 anos	17	70,8	83	56,5	***
Não informado	0	0	12	8,2	
Total	24	100	147	100	
Procedência					
Urbana	17	70,8	83	56,5	0,185
Rural	7	29,2	64	43,5	
Total	24	100	147	100	

*** Sem aplicabilidade do Qui-quadrado
Fonte: Dados da pesquisa.

Tabela 5*. Sinais clínicos em relação à soroprevalência em cães de Itaporanga-PB entre os anos de 2015-2016.*

Categoria	**Soroprevalência**				**Valor p**	**OR* IC 95%**	**RP** IC 95%**
	Positivo		Negativo				
	N	%	N	%			
Apático							
Sim	0	0	5	66,7			
Não	24	100	142	97,1	***		
Total	24	100	147	100			
Caquético							
Sim	4	16,7	6	4,1			
Não	20	83,3	141	95,9	***		
Total	24	100	147	100			
Alopecia							
Sim	5	20,8	5	3,4		7,474	4,237
Não	19	79,2	142	96,6	0,001	(1,98 – 28,23)	(2,00 – 8,97)
Total	24	100	147	100			
Feridas múltiplas							
Sim	8	33,3	9	6,1		7,667	4,529
Não	16	66,7	138	93,9	0,000	(2,59 – 22,67)	(2,28 – 8,99)
Total	24	100	147	100			
Unhas crescidas							
Sim	5	20,8	3	2			
Não	19	79,2	144	98	***		
Total	24	100	147	100			

*Odds ratio **Razão de Prevalência *** Sem aplicabilidade do qui-quadrado.
Fonte: Dados da pesquisa.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

UMA REVISÃO SOBRE NANOFLUIDOS: MÉTODOS DE PREPARAÇÃO E APLICAÇÕES

A REVIEW ON NANOFLUIDS: PREPARATION METHODS AND APPLICATIONS

ROCHA, Paulo Alexandre Costa[1*]; SANTOS, Rogério Feliciano de Moura[2]; LIMA, Ricardo José Pontes[3]; SILVA, Maria Eugênia Vieira da[4]

[1,2,3,4] Universidade Federal do Ceará, Departamento de Engenharia Mecânica, Laboratório de Energia Solar e Gás Natural, Rua Professor Armando Farias, 713, CEP 60020-181, Fortaleza – CE, Brasil (fone: +55 85 3366 9881; fax: +55 85 3366 9881)

** Autor correspondente*
e-mail: paulo.rocha@ufc.br

Received 12 November 2018; received in revised form 29 November 2018; accepted 05 January 2019

RESUMO

Pesquisas em transferência de calor utilizando suspensões de partículas sólidas de tamanho nanométrico em líquidos como fluido de base começaram nas últimas duas décadas. O nanofluido trata-se de uma mistura coloidal composta de um fluido base e de nanopartículas. As nanopartículas podem ser metálicas, não-metálicas, cerâmicas, óxidos e de várias outras categorias, sendo os nanocompósitos uma das áreas de maior crescimento na engenharia de materiais. Os nanofluidos fazem parte de uma nova geração de fluidos de alto potencial em aplicações de transferência de calor devido à sua maior condutividade térmica. Os estudos mais recentes sobre nanofluidos indicam que as nanopartículas suspensas alteram marcadamente as propriedades e as características de transferência de calor da suspensão. Este artigo resume alguns dos recentes avanços no estudo de nanofluidos e nanopartículas, tais como os métodos de preparação, as suas propriedades termofísicas e finalmente apresenta vários campos de aplicações como aplicações solares térmicas, mecânicas, automotivas, eletrônicas, médicas, biomédicas etc.

Palavras-chave: *nanopartículas, investigação experimental, engenharia de materiais, transferência de calor*

ABSTRACT

Research in heat transfer using suspensions of nanometer-sized solid particles in liquids as the base fluids have started in the last two decades. The nanofluid is a colloidal mixture composed of a base fluid and nanoparticles. The nanoparticles may be metallic, nonmetallic, ceramic, oxide and of several other categories, being the nanocomposites one of the areas of greater growth in the engineering of materials. Nanofluids are part of a new generation of high potential fluids in heat transfer applications due to their higher thermal conductivity. Most recent studies on nanofluids indicate that suspended nanoparticles markedly alter the properties and heat transfer characteristics of the suspension. This article summarizes some of the recent advances in the study of nanofluids and nanoparticles, such as their preparation methods, their thermophysical properties and finally presents various fields of applications such as solar thermal, mechanical, automotive, electronic, medical, biomedical etc.

Keywords: *nanoparticles, experimental investigation, materials engineering, heat transfer*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

1. INTRODUÇÃO

A energia é um dos principais fatores referentes ao crescimento e desenvolvimento econômico de qualquer país. O aprimoramento do processo de transferência de calor nos sistemas de energia é um dos quesitos mais relevantes para alcançar um melhor desempenho desses sistemas com projetos compactos (Elsheikh *et al.*, 2018).

A inovadora tecnologia de materiais permitiu produzir uma nova classe de fluidos de transferência de calor conhecidos como nanofluidos. Os nanofluidos são materiais compósitos sólidos e líquidos criados por suspensão de materiais sólidos de tamanho nanométrico em fluidos de base. Em outras palavras, os nanofluidos são suspensões coloidais de nanoescala contendo nanomateriais condensados. Os nanofluidos têm demonstrado um grande potencial de aplicações em vários campos. (Yu e Xie, 2012).

As nanopartículas podem ser metálicas, não metálicas, óxidas, carbonetos, cerâmicas, carbonatos, nanopartículas híbridas e até mesmo gotas líquidas de nanoescala (Fuskele e Sarviya, 2017). Os nanocompósitos, isto é, compósitos que contêm duas partículas dispersas diferentes na faixa de nanômetros, são uma parte significativa da nanotecnologia e uma das áreas de maior crescimento na ciência e engenharia de materiais (Suresh *et al.*, 2011).

As nanopartículas são geralmente classificadas com base na sua morfologia, dimensionalidade, composição, uniformidade e aglomeração. Com base na morfologia, as nanopartículas podem ser estruturais planas, esféricas e cristalinas (Fariq *et al.*, 2017). Em relação à dimensionalidade, as nanopartículas podem ser classificadas como unidimensionais, bidimensionais e tridimensionais. As nanopartículas unidimensionais incluem filmes finos utilizados em dispositivos eletrônicos e sensoriais. As nanopartículas bidimensionais incluem nanotubos de carbono que possuem alta capacidade de adsorção e estabilidade. As nanopartículas tridimensionais contêm dendrímeros, pontos quânticos (Pal *et al*, 2011).

Os nanofluidos híbridos são novos tipos de nanofluidos, que podem ser preparados suspendendo duas ou mais nanopartículas no fluido base. Uma nanopartícula híbrida é uma substância que combina propriedades físicas e químicas dos materiais constituintes simultaneamente e fornece essas propriedades em uma fase homogênea (Devendiran e Amirtham, 2016).

O objetivo deste artigo traz como enfoque uma revisão acerca dos nanofluidos, explicitando e exemplificando os métodos de preparação e todas as etapas que os englobam, bem como o estudo das suas propriedades termofísicas e as novas tendências de aplicações práticas em diversos campos da ciência. No entanto, ainda há muitos desafios que precisam ser superados. Uma discussão acerca desses desafios está contida ao fim desta revisão.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

A preparação de nanofluidos é o primeiro passo chave em estudos experimentais com nanofluidos. O nanofluido não é simplesmente uma mistura líquida/sólida e, por isso, necessita na sua preparação de requisitos especiais, como uma suspensão uniforme, suspensão estável, baixa aglomeração de partículas e nenhuma alteração química do fluido. A alteração do pH da suspensão, o uso de ativadores de superfície ou dispersantes, bem como o uso de vibração ultrassônica, são algumas sugestões para se estabilizar as suspensões (Xuan e Li, 2000). Existem principalmente duas técnicas usadas para produzir nanofluidos: o método de um passo e de dois passos.

2.1. Técnica de Um Passo

A técnica de um passo combina a produção de nanopartículas e a dispersão de nanopartículas no fluido base em um único passo. Neste método, os processos de secagem, armazenamento, transporte e dispersão de nanopartículas são evitados, de modo que a aglomeração de nanopartículas é minimizada e a estabilidade dos fluidos aumenta (Li *et al.*, 2009).

Em um dos métodos comuns, chamado método de evaporação direta de um passo, o nanofluido é produzido pela solidificação das nanopartículas, que estão inicialmente em fase gasosa, dentro do fluido base. A abordagem de evaporação direta de um único passo foi desenvolvida por Akoh *et al.* (1978) e é chamada de evaporação de vácuo para uma técnica de substratos de óleo corrente (VEROS).

Choi e Easteman (2001) produziram um

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

nanofluido com partículas de cobre nanocristalinas dispersas, utilizando um método de preparação com base na técnica VEROS. O cobre nanocristalino foi evaporado de forma resistiva em dois tipos de óleo de bomba. As partículas nanocristalinas são produzidas por evaporação direta em um líquido de baixa pressão de vapor. Um cilindro é submetido a um vácuo. O cilindro contém uma placa aquecedora que aquece a substância a ser vaporizada. O cilindro contendo o líquido a ser tratado é rotacionado para transportar uma fina camada do líquido na superfície. O líquido é arrefecido por um sistema de refrigeração para evitar que este aumente a pressão de vapor dentro do cilindro.

O método físico de um passo tem como limitação não poder sintetizar nanofluidos em grande escala, e o seu custo também é alto, como consequência disto, o método químico de um passo está se desenvolvendo rapidamente. Zhu *et al.* (2004) apresentou um método de síntese química de um passo para preparar nanofluidos de nanopartículas de cobre dispersas em etilenoglicol. O experimento consistiu na mistura de 25 ml de solução de etilenoglicol de sulfato de cobre penta-hidratado com 5 ml de solução de etilenoglicol de polivinilpirrolidona num copo de 100 ml, seguido de agitação magnética durante 30 minutos. Em seguida, adicionou-se 25 ml de solução de etileno glicol de hipofosfito de sódio e agitou-se durante mais 15 minutos. A mistura foi colocada em um forno de microondas para reagir por 5 minutos sob potência média. A cor da mistura passou de azul a vermelho escuro após a reação. Depois de arrefecer até à temperatura ambiente, obteve-se o nanofluido de cobre.

2.2. Técnica de Dois Passos

O método de dois passos é o método mais utilizado para a preparação de nanofluidos. Nanopartículas, nanofibras, nanotubos ou outros nanomateriais utilizados neste método são primeiramente produzidos como pós secos por métodos químicos ou físicos. Em seguida, o pó nanométrico será disperso em um fluido no segundo passo de processamento com a ajuda de agitação de força magnética intensiva, agitação ultrassônica, mistura de alto cisalhamento, homogeneização e moagem de bolas. O método de duas etapas é o método mais econômico para produzir nanofluidos em larga escala, porque as técnicas de síntese de nanopulsão já foram ampliadas para níveis de produção industrial (Yu e Xie, 2012).

2.3. Síntese de Nanopartículas

A síntese de nanopartículas é o primeiro passo para a preparação de nanofluidos no método de dois passos. As nanopartículas podem ser sintetizadas usando várias abordagens, incluindo químicas, físicas e biológicas (Fuskele e Sarviya, 2017)**.** Algumas abordagens para sintetizar nanopartículas são discutidas a seguir.

Deshmukh *et al.* (2013) sugeriram um novo método para sintetizar nanopartículas em forma de agulha de cobalto (aciculares) bem dispersas em água por uma rota de redução de temperatura ambiente.

Ajitha *et al.* (2013) sintetizaram nanopartículas de prata em forma esférica através de método de redução química usando citrato de tri-sódio como agente redutor e acetato de polivinila como surfactante. Verificou-se que o tamanho das nanopartículas pode ser ajustado simplesmente variando o pH do sistema de reação.

Huminic *et al.* (2015) produziram nanopós de carbeto de ferro (FeC) utilizando a técnica de pirólise a laser a partir de vapores de pentacarbonila de ferro transportados por etileno que também atua como agente de transferência de energia a laser. Resumidamente, a onda contínua de dióxido de carbono (λ = 10,6 μm) irradia ortogonalmente a mistura de fluxo de gás reativo, resultando dessa maneira uma chama, a partir da qual emergem as nanopartículas.

Guzman *et al.* (2015) sintetizaram nanopartículas de cobre a partir de um método de poliol por meio de micro-ondas. Foi dissolvido ácido ascórbico em etilenoglicol, em seguida adicionou-se polivinilpirrolidona. Após a solução ser formada, esta foi agitada e aquecida através de um fluxo de calor constante por equipamentos de micro-ondas adaptado para síntese química. Nesta fase houve a adição de uma solução de acetato de cobre anidro ($CuAc_2$) em etilenoglicol. Obtém-se um pó avermelhado a partir da centrifugação das nanopartículas de cobre.

Ho *et al.* (2017) relataram a síntese e caracterização de um novo polímero de metalopoliol contendo platina. Foi verificado que este metalopolímero pode atuar como precursor para a síntese de nanopartículas de platina após pirólise. O metalopolímero sintetizado foi

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

colocado em um barco de cerâmica, que foi então colocado dentro de um tubo de reação de quartzo equipado com controles de temperatura e fluxo de gás. Em seguida, todo o conjunto foi aquecido até 600 °C a uma velocidade de 20 °C por minuto e o metalopolímero foi pirolisado a 600 °C durante 5 h sob uma atmosfera de nitrogênio. Após a pirólise obteve-se particulas finas em pó com seu tamanho situado dentro da gama de nanomateriais.

De acordo com os estudos de Kefeni *et al.* (2017) recentemente uma série de métodos de síntese foram relatados para a preparação de nanopartículas de ferrita, contudo não há um método universal e cada um desses métodos de síntese tem suas próprias vantagens e desvantagens. Ainda de acordo com a pesquisa, entre estes métodos de síntese a microemulsão, radiação sonoquímica e de microondas são novas técnicas e estão sendo cada vez mais utilizadas na era moderna na síntese de uma série de nanopartículas.

Foroughi *et al.* (2015) produziram nanopartículas magnéticas de ferrita de cobalto-hidroxiapatita ($CoFe_2O_4$-HAp) pelo método de microemulsão reversa para serem utilizadas como adsorvente na remoção de zinco de uma solução aquosa. As soluções de microemulsão foram preparadas a partir de uma outra solução contendo 5 gramas de um agente tensoativo, 100 mililitros de n-hexano e 10 mililitros n-butano que foi dividida em 4 partes.

Hu *et al.* (2011) sintetizaram as três grandes fases do óxido de ferro: magnetita (Fe_3O_4), maguemita (c-Fe_2O_3) e hematita (a-Fe_2O_3), sob tratamento com microondas em uma autoclave, a partir de soluções de sais de cloreto de ferro ($FeCl_2$ e $FeCl_3$) em álcool/água na presença de hidróxido de sódio (NaOH). A síntese realizada com cloreto de ferro ($FeCl_3$) como o único precursor levou à produção de fase de hematita pura. Quando o cloreto de ferro ($FeCl_2$) foi utilizado como o único precursor, as nanopartículas de magnetita ou maguemita foram produzidas dependendo do processo de secagem utilizado.

Jeong *et al*. (2004) utilizaram um método sonoquímico para sintetizar nanotubos de carbono de parede simples via radiação ultrasônica a partir de uma solução contendo pó de sílica, ferroceno e p-xileno. Nesta síntese, o ferroceno foi usado como precursor do ferro catalisador, utilizou-se p-xileno como um precursor de carbono e o pó de sílica proporcionou locais de nucleação para o crescimento de nanotubos de carbono, como mostrado no esquema da Figura 1.

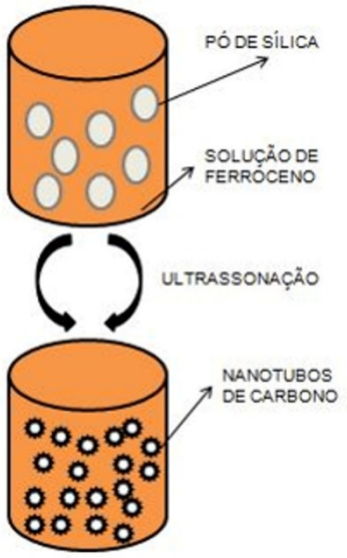


Figura 1 - Esquema da rota sonoquímica para nanotubos de carbono de parede simples.

Em relação aos nanofluidos híbridos, o trabalho de pesquisa ainda é bastante limitado e muitos estudos experimentais ainda estão por serem feitos (Devendiran e Amirtham, 2016). Contudo, há alguns relatos de métodos utilizados na preparação de nanofluidos híbridos. É o caso dos estudos de Shehata *et al.* (2009) que utilizaram um método mecânico-químico com duas vias diferentes para sintetizar os pós nanocompósitos de cobre-alumina. No primeiro caso adicionou-se cobre à solução aquosa de nitrato de alumínio, já segunda via foi realizada por adição de cobre a uma solução aquosa de nitrato de alumínio e hidróxido de amônio. Em ambas os casos, as misturas foram aquecidas no ar, reduzidas em atmosfera de hidrogênio e fresadas mecanicamente para obter óxidos de pó ultrafinos de óxido de cobre e alumina.

2.4. Estabilização

De acordo com Saidur *et al.* (2011) a estabilidade da dispersão é considerada como uma das questões mais desafiadoras que limitam o uso prático e o desenvolvimento de nanofluidos, especialmente para nanofluidos térmicos, pois de acordo com Yu *et al.* (2017) estes são submetidos a altas temperaturas ou repetidos ciclos de aquecimento/resfriamento, o que aumenta bastante a probabilidade de colisão

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

e tendência de agregação das nanopartículas.

Segundo Silva (2010), as nanopartículas possuem uma elevada energia superficial e, como consequência, elas tendem a aglomerar-se com facilidade, dificultando a dispersão. A fim de contrariar esta tendência natural das nanopartículas e mantê-las afastadas entre si, faz-se necessário que as forças repulsivas sejam suficientemente grandes de modo que o efeito de aproximação entre as partículas seja superado. Essa interação repulsiva é produzida principalmente por dois mecanismos: a repulsão eletrostática e a estabilização estérica.

Na estabilização estérica são adicionados polímeros à suspensão que ao se adsorverem à superfície da partícula evitam que estas se aproximem. Essa adsorção cria uma barreira com espessura suficiente para manter as partículas separadas através de bloqueios estéricos entre as camadas poliméricas, como esquematizado na Figura 2.

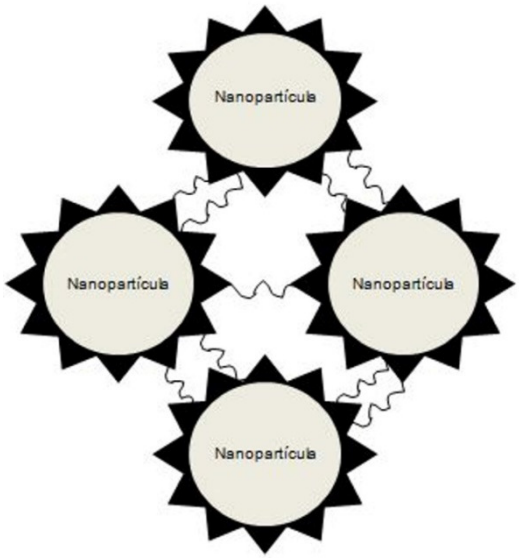


Figura 2 *- Representação da estabilização estérica.*

Segundo Silva (2010), na estabilização eletrostática a presença de carga em partículas suspensas resulta num aumento de contra-íons à superfície, levando com que em torno de cada partícula se forme uma dupla camada elétrica. O íon, de carga positiva ou negativa, e o contra-íon, formam a parte fixa da dupla camada elétrica, onde os íons se encontram fortemente ligados à superfície. Mais distante da superfície encontra-se a parte difusa da dupla camada que consiste em íons de polaridades diferentes, os quais se estendem sobre a fase líquida. Quando a partícula se move, existe uma fronteira imaginária dentro da camada difusa onde os íons acompanham o movimento da partícula formando um sistema estável.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A incorporação de nanopartículas no fluido base conduz a alterações nas propriedades termofísicas, como a condutividade térmica, a viscosidade e o calor específico que afetam a transferência de calor convectiva. As principais propriedades dos nanofluidos são discutidas a seguir.

3.1. Condutividade Térmica

Diversos estudos mostram que a condutividade térmica dos nanofluidos é maior do que os fluidos de base. Wei *et al.* (2009) obtiveram um aumento de 24% na condutividade térmica ao adicionar nanopartículas de óxido cuproso em água como fluido base.

Yu *et al.* (2010) relataram um acréscimo na condutividade térmica de um nanofluido a base de querosene a partir da adição de nanopartículas de magnetita (Fe3O4).

Outro estudo foi realizado por Yu *et al.* (2011) mostra uma significativa melhoria da condutividade térmica em nanofluidos contendo nano-folhas de grafeno dispersas em etilenoglicol. Os nanofluidos de grafeno foram preparados pelo seguinte método, após a síntese das nanopartículas de grafeno a partir do óxido de grafite, foi fixada uma qualidade do grafeno com diferentes frações de volume (φ: 0,01-0,05, φ é a fração volumétrica de nanopartículas de grafeno) a qual foi dispersa em etilenoglicol. A mistura de nanofluido foi agitada e sonicada usando máquina de lavar ultrassônica. A solução de etanol e óxido de grafeno é marrom, enquanto a solução de grafeno é preta.

Suresh *et al.* (2011) prepararam nanofluidos híbridos alumina-cobre (Al2O3-Cu) com água como fluido base, a partir da mistura em pó de alumina (Al2O3) e óxido de cobre (CuO) na razão de proporções em peso de 90:10. O resultado experimental da condutividade térmica apresentou maior melhora de 12,11% para uma concentração volumétrica de 2%.

Como visto, muitos estudos sobre

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

nanofluidos, portanto, concentraram-se na condutividade térmica, que é o parâmetro mais complexo para o processo de transferência de calor (Sui *et al*., 2017). Maxwell derivou uma equação que tem sido frequentemente utilizada (Eq. 1), onde a condutividade térmica efetiva para uma mistura sólido-líquido é definida (Ozerinç *et al*., 2010) como:

$$k_{eff} = \frac{k_p + 2k_{bf} + 2(k_p - k_{bf})\Phi}{k_p + 2k_{bf} - (k_p - k_{bf})\Phi} k_{bf} \qquad \text{(Eq.1)}$$

Onde k_{eff}, k_p e k_{bf} são as condutividades térmicas do nanofluido, das nanopartículas e do fluido base, respectivamente. A fração volumétrica das partículas na mistura é expressa por Φ. Conforme visto pela expressão, o efeito do tamanho e forma das partículas não foi incluído na análise.

Hamilton e Crosser (1962) estenderam o modelo Maxwell para ter em conta o efeito da forma das partículas sólidas, além das condutividades térmicas de fases sólidas e líquidas e fração volumétrica de partículas. O modelo é o seguinte:

$$k_{eff} = \frac{k_p + (n-1)k_{bf} - (n-1)\Phi(k_{bf} - k_p)}{k_p + (n-1)k_{bf} + (k_{bf} - k_p)\Phi} k_f \text{(Eq. 2)}$$

Onde n é o fator de forma empírico e é definido como:

$$n = \frac{3}{\Psi} \qquad \text{(Eq. 3)}$$

Onde Ψ é a esfericidade. A esfericidade é a proporção da área superficial de uma esfera com um volume igual à da partícula para a área superficial da partícula. Ambos (Eq. 2) e (Eq. 3) são usados freqüentemente para relacionar valores experimentais e teóricos

3.2. Viscosidade

A viscosidade é outro fator essencial para aplicações de transferência de calor, pois de acordo com Gupta *et al*. (2017) a queda de pressão e o poder de bombeamento dependem disso. A viscosidade é uma medida da tendência de um líquido para resistir a um fluxo. É a razão entre a tensão de cisalhamento e a taxa de cisalhamento. O líquido é conhecido como newtoniano quando a viscosidade é constante mesmo para diferentes valores de taxa de cisalhamento. Quando há variação nos valores da viscosidade para diferentes taxas de cisalhamento, então o líquido é conhecido como não-newtoniano (Suresh *et al*., 2011).

Em qualquer fluido a viscosidade tem um impacto significativo nas características do fluxo. Em um sistema de nanofluido, a viscosidade afeta a transferência de calor convectiva. Além disso, a adição de nanopartículas em um fluido base resulta em um aumento de viscosidade, introduzindo um efeito negativo no processo de transferência de calor total (Sui *et al*., 2017).

Chevalier *et al.* (2007) relataram um incremento da viscosidade de cisalhamento com a diminuição no tamanho das nanopartículas. Eles mediram os três diferentes tamanhos de nanopartículas, 35, 94, 190 nanômetros de diâmetro de dióxido de silício em água e dióxido de silício em etileno glicol para diferentes frações volumétricas.

Nguyen *et al.* (2008) estudaram o efeito da temperatura e da concentração volumétrica de nanopartículas na viscosidade dinâmica dos nanofluidos água-alumina com 36 e 47 nanômetros de tamanho de partícula. Os resultados mostraram que, a viscosidade dinâmica dos nanofluidos aumentou extensivamente com fração de volume de partículas de 1% a 9,4%, mas diminuiu com um aumento de temperatura de 22° C para 75° C.

Duangthongsuk e Wongwises (2009) investigaram experimentalmente a viscosidade dinâmica de um nanofluido baseado em nanopartículas de dióxido de titânio dispersas em água com concentração volumétrica de 0,2-2%. Todas as informações foram para temperaturas entre 15° e 35° C. Os resultados mostraram que a viscosidade medida dos nanofluidos aumentou com as concentrações de partículas e diminuiu com o aumento da temperatura dos nanofluidos.

Saeedinia *et al.* (2012) examinaram a viscosidade de nanofluidos feitos a partir de óxido de cobre com óleo de base. Este experimento foi realizado com diferentes frações de peso de 0,2-2% em diferentes temperaturas. Os resultados experimentais mostraram que a viscosidade dinâmica aumenta significativamente com o aumento da concentração de nanopartículas. Maior incremento foi observado nas temperaturas mais baixas dos nanofluidos.

Em outro estudo, Kole e Dey (2013), trabalharam com nanofluidos de cobre-óleo de

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

motor. Eles prepararam nanofluidos com concentração volumétrica de nanopartículas de cobre entre 0,11-2% com surfactante de ácido oleico. Os resultados experimentais consideraram a influência da fração volumétrica de partículas e temperatura variando de 10° e 80° C. Nesta investigação, o aumento na viscosidade de aproximadamente 71% foi obtido para uma fração volumétrica de nanopartículas de cobre de 2% a 30° C.

Einstein foi o primeiro a calcular a viscosidade efetiva de uma suspensão de sólidos esféricos usando as equações hidrodinâmicas fenomenológicas e propôs o seguinte modelo (Eq. 4) para a viscosidade efetiva (Shima *et al.*, 2010):

$$\frac{\mu}{\mu_{bf}} = 1 + 2{,}5\phi \qquad \text{(Eq. 4)}$$

Onde Φ é a fração do volume de partículas, μ é a viscosidade dinâmica do nanofluido e μ_{bf} é a viscosidade dinâmica do fluido base.

Brinkman (1952) modificou o modelo de Einstein para que ele pudesse ser usado para frações moderadas de volume até 4% (Eq. 5):

$$\frac{\mu}{\mu_{bf}} = \frac{1}{(1-\phi)^{2,5}} \qquad \text{(Eq. 5)}$$

Quando Φ≥ 0.01, as interações hidrodinâmicas entre as partículas tornam-se importantes, já que o distúrbio do fluido em torno de uma partícula interage com a de outras partículas**.** A viscosidade, nesse caso, é dada pela equação proposta no modelo de Batchelor (1977). O modelo (Eq. 6) inclui o efeito devido ao movimento browniano de partículas no estresse em massa de uma suspensão isotrópica de partículas rígidas e esféricas:

$$\frac{\mu}{\mu_{bf}} = 1 + 2{,}5\phi + 6{,}5\phi^2 \qquad \text{(Eq. 6)}$$

3.3. Calor Específico

O calor específico é uma das principais propriedades para analisar o processo de transferência de calor. Em geral, as nanopartículas exibem menor capacidade de calor específico do que os fluidos e, portanto, necessitarão de uma menor quantidade de calor para que um nanofluido atinja uma determinada temperatura. Isso produz um efeito positivo, pois proporciona aos nanofluidos a capacidade de armazenar calor com mais facilidade (Sui *et al.*, 2017).

Palm *et al.* (2006) apresentaram o seguinte modelo (Eq. 7) para avaliar a capacidade calorífica específica.

$$c_{p,nf} = \frac{(1-\phi)(\rho c_p)_{bf} + \phi(\rho c_p)_p}{\phi\rho_p + (1-\phi)\rho_{bf}} \qquad \text{(Eq. 7)}$$

Onde $c_{p,nf}$ é a capacidade de calor específico do nanofluido, c_p é o calor específico e ρ é a densidade.

Zhou e Ni (2008) relataram uma investigação experimental sobre o calor específico do nanofluido de alumina à base de água com um calorímetro de varredura diferencial. O resultado indica que o calor específico do nanofluido diminui gradualmente à medida que a concentração do volume Φ de nanopartículas aumenta de 0,0% para 21,7%. A relação entre eles exibe um bom acordo com a predição do modelo de equilíbrio térmico (Eq. 7).

Robertis *et al.* (2012) utilizaram a técnica de calorimetria de varredura de temperatura modulada (MTDSC) aplicada para determinação do calor específico, apresentando boa concordância entre os valores obtidos e tabulados dos componentes constituintes de nanofluidos (etilenoglicol e nanopartículas de cobre). Os resultados mostraram que a presença de nanopartículas de cobre no fluido base altera as características dos processos de cristalização e fusão e reduz os valores de calor específico dos nanofluidos em toda a faixa de temperatura estudada (0º a 140º C).

Saeedinia *et al.* (2012) investigaram experimentalmente as capacidades de calor específico de nanofluidos de óleo de base de CuO com frações de peso de partícula de 0,2 a 2% em diferentes temperaturas. Neste experimento, os nanofluidos apresentaram uma capacidade térmica menos específica que a do fluido base e diminuíram com o aumento da concentração de nanofluidos. O resultado indicou que o calor específico dos nanofluidos com uma fração de 2% em peso era cerca de 23% inferior ao do fluido de base a 40 ° C.

Barbes *et al.* (2014) realizaram experimentos em nanofluidos de nanopartículas de óxido de cobre à base de água e etileno-glicol e compararam-nos com a Equação 7. As

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

medidas experimentais e as previsões do modelo estão em bom acordo.

3.4. Aplicações dos Nanofluidos

O nanofluido desempenha um papel de suma importância em muitas aplicações que acarretam em um grande impacto no desenvolvimento de equipamentos para inúmeras aplicações de engenharia e medicina. As aplicações dos nanofluidos têm um amplo espectro no campo prático, de modo que exigem artigos de revisão separados a serem cobertos. Algumas das aplicações são discutidas abaixo.

3.4.1. Aplicações Solares Térmicas

Vários documentos de pesquisa (Otanicar *et al*., 2010; Lu *et al*., 2011; Liu *et al*., 2013; Mahian *et al*., 2014; Zamzamian *et al*., 2014; Rahman *et al*., 2014; Goudarzi *et al*., 2015; Jouybari *et al*., 2017; Noghrehabadi *et al*., 2017) investigaram o aprimoramento do desempenho térmico alcançado utilizando nanofluidos em diferentes tipos de coletores solares, alguns são discutidos a seguir.

Rahman *et al.* (2014) realizaram um estudo de um coletor solar de forma triangular com um fundo ondulado e três nanofluidos distintos à base de água: cobre, alumina e óxido de titânio. Foi relatado um aumento na transferência de calor convectiva a partir da adição de nanopartículas à água, quando a fração volumétrica das nanopartículas sólidas é mantida em 0,05% ou 0,08%. Além disso, seus resultados elucidaram que o nanofluido cobre-água possui um melhor desempenho do ponto de vista da transferência de calor em comparação com outros nanofluidos investigados; a taxa de transferência de calor aumenta até 24% usando nanofluido cobre-água com uma concentração volumétrica de 10% em vez de água.

Goudarzi *et al.* (2015) investigaram o efeito da variação do pH de dois nanofluidos: óxido de cobre-água e alumina-água sobre a eficiência de um coletor solar cilíndrico. O coletor consiste em um tubo de vidro cilíndrico com tubo helicoidal como receptor da energia solar. As experiências foram realizadas utilizando 0,1% em peso de óxido de cobre e 0,2% em peso de alumina com vários valores de pH e com base no padrão ASHRAE no teste do coletor. Foi adicionado um surfactante aos nanofluidos para melhorar a sua estabilidade após a sonicação. Os resultados da experiência mostraram que, com a variação do pH dos nanofluidos longe do ponto isoelétrico das nanopartículas (à medida que os nanofluidos se tornam mais ácidos ou básicos), a eficiência térmica do coletor é aumentada. Assim, para o nanofluido de óxido de cobre-água na condição ácida (pH = 3), o aumento da eficiência obtido é de cerca de 52% em comparação com o pH = 10,5 e para o nanofluido alumina-água na condição básica (pH = 10,5), a eficiência do coletor foi em 64,5% maior do que para pH = 9,2. Também a eficiência com o nanofluido alumina-água longe do ponto isoelétrico é maior que a do nanofluido óxido de cobre-água.

Noghrehabadi *et al.* (2017) investigaram experimentalmente a viabilidade da utilização de um nanofluido de óxido de silício-água para melhorar o desempenho térmico de um coletor solar como o esquematizado pela Figura 3. O coletor solar cônico com 1 m² de área e em posição normal à terra foi testado em uma cidade no sudoeste do Irã. Os experimentos foram realizados sob o padrão ASHRAE sem qualquer surfactante e com base na radiação solar, taxa de fluxo em massa e variação de temperatura. A eficiência do coletor solar cônico foi aumentada à medida que a taxa de fluxo em massa é aumentada para ambos fluidos de trabalho. No entanto, a altas taxas de fluxo e maior radiação solar, o coletor com nanofluido apresentou maior aumento na eficiência em comparação com o coletor com água. Além disso, a eficiência máxima alcançada foi de cerca de 62% com um aumento na temperatura entre a entrada e a saída igual a 6,8 °C.

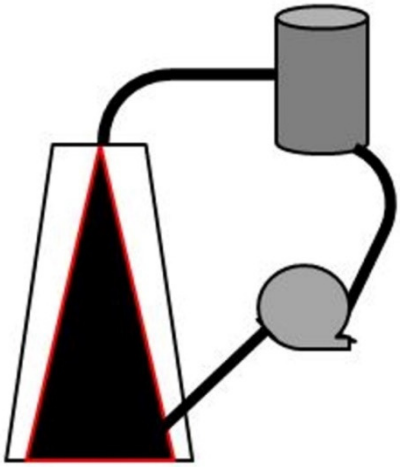


Figura 3 *- Representação esquemática de um coletor solar cônico.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

3.4.2. Aplicações Mecânicas

A tribologia é o campo da ciência e engenharia que estuda os fenômenos que ocorrem entre superfícies em contato com movimento relativo. Nos processos de fabricação de produtos ou componentes, é comum ocorrer o contato devido o movimento relativo entre a peça a ser produzida e a ferramenta ao qual está executando o processo. Contudo, o contato entre esses dois materiais pode originar defeitos, principalmente superficiais, quando o atrito não for bem controlado. Nesse sentido, alguns esforços vêm sendo empreendidos para se aumentar o entendimento da atuação e redução do atrito nos processos de usinagem e conformação mecânica (Folle e Schaeffer, 2017).

3.4.2.1. Redução de Fricção

Os lubrificantes avançados podem melhorar a produtividade através da economia de energia e da confiabilidade dos sistemas de engenharia. A pesquisa tribológica enfatiza fortemente a redução de fricção e desgaste. As nanopartículas atraíram muito interesse nos últimos anos devido à sua excelente capacidade de carga, boa pressão extrema e propriedades de redução de fricção (Yu e Xie, 2012; Devendiran e Amirtham, 2016).

Zhou *et al.* (2000) avaliaram o comportamento tribológico das nanopartículas de cobre em óleo em uma máquina de quatro esferas. Os resultados mostraram que as nanopartículas de cobre como um aditivo de óleo tinham melhores propriedades de redução de fricção e anti-desgaste do que o ditiofosfato de zinco, especialmente em alta carga aplicada.

Yu *et al*. (2008) estudaram as propriedades de desgaste e fricção de nanopartículas de cobre modificadas na superfície, como aditivo de óleo de 50CC. Quanto maior a temperatura do óleo aplicada, melhor foram as propriedades tribológicas das nanopartículas de cobre. Foi relatado que uma fina película protetora de cobre com menor módulo de elasticidade e dureza foi formada na superfície desgastada, o que resultou nos bons desempenhos tribológicos das nanopartículas de cobre, especialmente quando a temperatura do óleo era maior.

Shen *et al.* (2008) aplicaram nanofluidos de diamante e alumina-água no processo de moagem de lubrificação mínima do ferro fundido. Os nanofluidos mostraram os benefícios de reduzir as forças de moagem, melhorar a rugosidade da superfície e prevenir a queima de peças. Em comparação com a moagem a seco, a moagem poderia reduzir significativamente a temperatura de moagem.

3.4.2.2. Selagem Mecânica

Os fluidos magnéticos são tipos de nanofluidos especiais. São suspensões coloidais estáveis de pequenas partículas magnéticas, como a magnetita (Fe_3O_4). Kim e Kim (2003) fabricaram pó magnético de ferro-cobalto em tamanho de manométrico para implementar em um mecanismo de vedação de fluido magnético. O pó foi revestido com dióxido de silício para a prevenção da agregação. Também foram aplicados três agentes tensoativos para melhorar a dispersão de partículas no meio fluido. Do teste de desempenho de vedação verificou-se que a pressão de retenção é 25 vezes maior que a de uma vedação de magnetita convencional.

Mitamura *et al.* (2008) estudaram a aplicação de uma vedação de fluido magnético a bombas de sangue rotativo. O selo de fluido magnético desenvolvido funcionou durante mais de 286 dias em uma condição de fluxo contínuo, durante 24 dias em uma condição de fluxo pulsátil e por 24 horas no fluxo sanguíneo. Constatou-se o vedante do fluido magnético como promissor para uma vedação do eixo em bombas de sangue rotativo.

3.4.3 Aplicações automotivas

Diversos pesquisadores se dispuseram a investigar, experimentalmente ou numericamente, o uso de nanofluidos como refrigerante do motor (Ollivier *et al.*, 2006; Choi *et al.*, 2008; Peyghambarzadeh *et al.*, 2013; Sridhara *et al.*, 2015).

De acordo com Tawfiki (2017) foram relatados excelentes aprimoramentos nas propriedades térmicas de nanofluidos, tais como nanofluidos baseados em etileno-glicol, em comparação com refrigerantes convencionais, e 50/50 mistura de etileno-glicol e água. Além disso, alguns autores indicaram que a área frontal do radiador pode ser reduzida até 10% devido ao uso de refrigerantes nanofluídicos.

Tzeng *et al.* (2005) dispersaram nanopartículas de óxido de cobre e alumina no óleo da transmissão do motor. Eles relataram

que o desempenho térmico dos nanofluidos tem uma vantagem clara à medida que produziram as temperaturas de transmissão mais baixas, tanto a baixa como a alta velocidade.

Nanofluidos de freio à base de óxidos de cobre (CBN) e de óxido de alumínio foram fabricados utilizando o sistema de síntese de nanopartículas submersas em arco e o sistema de arco de carga de plasma, respectivamente (Kao *et al*., 2007a,b). Os dois tipos de nanofluidos têm propriedades melhoradas, como um ponto de ebulição mais alto, maior viscosidade e uma maior condutividade que a do fluido de freio tradicional. A classificação de viscosidade do nanofluido com nanopartículas de óxido de cobre tende a ser maior do que o fluido de freio convencional. A maior viscosidade do CBN é atribuída às nanopartículas de óxido de cobre.

3.4.4. Aplicações médicas e biomédicas

Recentemente, os nanofluidos contribuíram em uma ampla gama de aplicações médicas e da indústria biomédica (Tawfiki, 2017). Os nanofluidos estão sendo utilizados em aplicações de nano-medicina, pois muitos estudos indicam que as nanopartículas podem ser utilizadas como veículos de entrega de nanodrogas (Shawgo *et al*., 2002; Ovsianikov *et al*, 2007; Kleinstreuer *et al*., 2008; Tripathi e Beg, 2014), como o sistema esquematizado na Figura 4**.**

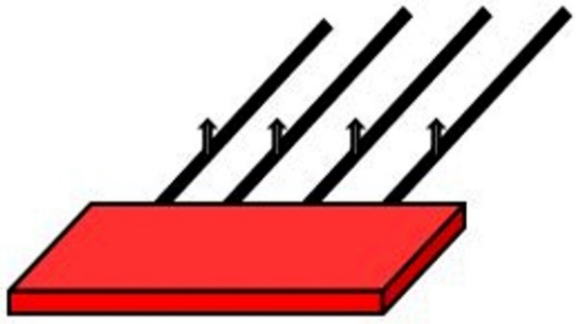


Figura 4 *- Representação esquemática de um sistema de entrega de nanodrogas com 4 canais*

Além disso, eles podem ser usados para matar células cancerosas sem afetar as células saudáveis próximas, produzindo temperaturas mais altas em torno de tumores (Jordan *et al*., 1999).

Zhang *et al*. (2007) examinaram o comportamento antibacteriano dos nanofluidos de óxido de zinco (ZnO) contra *E. coli* e os resultados mostraram que os nanofluidos de ZnO têm atividade bacteriostática contra a *E. coli*. A atividade antibacteriana aumenta com o aumento da concentração de nanopartículas e com a diminuição do tamanho das partículas.

Lyon e Alvarez (2008) propuseram que as suspensões de fulereno (nC_{60}) exerceram o estresse oxidativo independente em bactérias, com evidência de oxidação de proteínas, alterações no potencial da membrana celular e interrupção da respiração celular. Jalal *et al.* (2010) prepararam nanopartículas de óxido de zinco (ZnO) através de um método verde. A atividade antibacteriana de suspensões de nanopartículas de óxido de zinco contra *E. coli* foi avaliada estimando a proporção de bactérias tratadas com óxido de zinco. A taxa de sobrevivência das bactérias diminui com o aumento das concentrações de nanofluidos de óxido de zinco e com o tempo.

3.4.5. Aplicações eletrônicas

Devido à sua redução de tamanho de circuitos integrados e componentes microeletrônicos a dissipação de energia aumentou drasticamente. Os dispositivos eletrônicos avançados enfrentam desafios de gerenciamento térmico a partir do alto nível de geração de calor e a redução da área de superfície disponível para remoção de calor. Nanofluidos têm sido considerados como fluidos de trabalho em tubos de calor para aplicação de resfriamento de dispositivos eletrônicos (Yu e Xie, 2012; Devendiran e Amirtham, 2016; Tawfiki, 2017).

Alguns pesquisadores investigaram o uso de nanofluidos em tubos de calor (Kang *et al*., 2009; Naphon *et al*., 2009; Moussa, 2011), eles relataram um aprimoramento da eficiência do tubo de calor com misturas de nanopartículas. Outros pesquisadores como Nguyen *et al*. (2007) projetaram um circuito de líquido fechado para investigar o aumento da transferência de calor de um sistema de resfriamento líquido, substituindo o fluido base água destilada por um nanofluido composto de água destilada e nanopartículas de alumina em várias concentrações. Eles também relataram maior desempenho de refrigeração em seus refrigeradores.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

CONCLUSÕES

O presente artigo consistiu em revisar as pesquisas das últimas décadas e o seu respectivo progresso nos aspectos que envolvem os nanofluidos, como métodos preparação e as formas de estabilização, propriedades termofísicas bem como seus principais campos de aplicações.

Entre os dois métodos comuns relatados para produção de nanofluidos, a técnica de um passo promove uma maior estabilidade no fluido, pois minimiza as aglomerações das nanopartículas em comparação com a técnica de dois passos. Por outro lado, o método de dois passos tem a vantagem de ser mais econômico, pois as técnicas de produção em escala industrial já foram ampliadas, enquanto que o método de passo único, principalmente o método físico, possui um custo mais elevado e limitação da síntese de nanofluidos em larga escala. Até por isso, um método químico de um passo vem sendo desenvolvido para a produção de nanofluidos. Em relação à primeira etapa do método de dois passos, que envolve a síntese de nanopartículas, algumas abordagens têm se destacado, como a produção de nanopartículas por métodos de microemulsão, radiação sonoquímica, micro-ondas e um até um método mecânico-químico na preparação de nanofluidos híbridos. A estabilidade dos nanofluidos é um dos principais desafios que dificultam a sua aplicação prática generalizada, principalmente em nanofluidos térmicos, devido aos ciclos repetitivos de aquecimento e resfriamento a que são submetidos. Estudos mostraram que a estabilidade depende de diferentes fatores, como a adição de surfactantes que produzem forças repulsivas de modo a impedir a aglomeração natural das nanopartículas.

A transferência de calor convectiva é afetada diretamente pelas propriedades dos nanofluidos, principalmente pela condutividade térmica, viscosidade e calor específico. Há diversos modelos de condutividade térmica, viscosidade e calor específico de nanofluidos disponíveis na literatura, e alguns destes modelos aprimorados foram discutidos aqui. Os recentes progressos nas pesquisas, alcançados no aprimoramento da condutividade térmica com uso de nanofluidos, mostraram que essa propriedade é dependente de parâmetros como a fração volumétrica, tamanho e forma das nanopartículas, bem como os tipos de fluido base e de nanopartículas. Entre estes, a concentração volumétrica de nanopartículas foi o parâmetro chave que teve o efeito mais significativo. A maioria das publicações relatou que ele tem uma relação proporcional direta com o aumento da condutividade térmica. A viscosidade é outra propriedade termofísica importante dos nanofluidos na aplicação da transferência de calor, pois a potência de bombeamento e a queda de pressão dependem dessa propriedade. Os resultados experimentais sobre a viscosidade indicam que ela pode aumentar linearmente ou não linearmente devido à adição de nanopartículas, isto é, devido ao aumento da concentração em volume. Além disso, com o aumento da temperatura, a viscosidade diminui devido ao efeito sobre as forças intermoleculares. A viscosidade também depende do tamanho das partículas, pois aumenta com a diminuição do tamanho das partículas dos nanofluidos. Esta pesquisa também mostrou que o calor específico dos nanofluidos é dependente da concentração volumétrica e do tamanho das partículas, assim como da temperatura. Além disso, os modelos de predição tem se mostrado satisfatórios quando comparados com os valores de calor específico obtidos experimentalmente.

Por fim, a presente revisão também indica que os nanofluidos possuem um leque de oportunidades para aplicações em distintos campos da ciência, entretanto, esses exemplos de aplicações ainda são restritos a testes experimentais, na sua maioria, ou em pequena escala. Na área da captação e utilização da energia solar, alguns testes promissores com nanofluidos têm sido realizados em coletores solares de absorção direta, obtendo-se uma maior eficiência do que com fluidos convencionais. Os nanofluidos também mostraram um aprimoramento nas propriedades tribológicas relacionadas ao desgaste e fricção dos materiais durante processos de conformação mecânica. Ademais, o potencial dos nanofluidos tem sido explorado no desenvolvimento de novos medicamentos e sistemas de transporte no corpo humano para estes, além da possibilidade que oferecem em substituir fluidos convencionais, como a água, no resfriamento de sistemas eletrônicos.

Portanto, os nanofluidos mostram-se uma área promissora para atuais e futuras aplicações e em diversos ramos de pesquisa, contudo, somente quando forem superados os desafios associados ao entendimento teórico, modelos,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

custo, preparação, aglomeração, dispersão e estabilidade de nanopartículas em fluidos de base, a comercialização de nanofluidos será viável e bem-sucedida, havendo então desenvolvimentos consideráveis em muitas aplicações.

AGRADECIMENTOS:

Agradecemos a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e a FUNCAP (Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela ajuda financeira durante período de realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS:

1. AJITHA, B., DIVYA, A., REDDY, P., S., Impact of pH on the Properties of Spherical Silver Nanoparticles Capped by PVA. *Advanced Materials Manufacturing & Characterization,* **2013**, 3, 403-406.
2. AKOH, H., TSUKASAKI, Y., YATSUYA, S., TASAKI, A. Magnetic properties of ferromagnetic ultrafine particles prepared by vacuum evaporation on running oil substrate. *Journal of Crystal Growth*, **1978**, 45, 495-500.
3. BARBES, B., PÁRAMO, R., BLANCO, E., CASANOVA, C. Thermal conductivity and specific heat capacity measurements of CuO nanofluids. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. **2014**, 115, 1883-1891.
4. BATCHELOR, G., K. The effect of Brownian motion on the bulk stress in a suspension of spherical particles. *J. Fluid Mech.* **1977**, 83, 97-117.
5. BRINKMAN, H., C. The Viscosity of Concentrated Suspensions and Solutions. *Journal of Chemical Physics*. **1952**, 20, 4, 571.
6. CHEVALIER, J., TILLEMENT, O., AYELA, F. Rheological properties of nanofluids flowing through microchannels. *Applied Physics Letters*. **2007**, 91, 1-3.
7. CHOI, S., U., S., EASTMAN, J., A., Enhanced heat transfer using nanofluids. **2001**, U.S. n. 6221275.
8. CHOI, C., YOO, H., S., OH, J., M. Preparation and heat transfer properties of nanoparticle in transformer oil dispersions as advanced energy-efficient coolants. *Current Applied Physics*. **2008**, 8, 6, 710-712.
9. DESHMUKH, R., THAOKAR, R., MEHRA, A. Ionic liquid assisted synthesis and crystal habit control of cobalt acicular nanoparticles. *Advanced Materials Manufacturing & Characterization*. **2013**, 2, 105-109.
10. DEVENDIRAN, D., K., AMIRTHAM, V., A. A review on preparation, characterization, properties and applications of nanofluids. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. **2016**, 60, 21-40.
11. DUANGTHONGSUK, W., WONGWISES, S. Measurement of temperature-dependent thermal conductivity and viscosity of TiO2-water nanofluids. *Experimental Thermal and Fluid Science*. **2009**, 33, 706-714.
12. ELSHEIKH, A., H., SHARSHIR, S., W., MOSTAFA, M., E., ESSA, F., A., ALI, M., K., A. Applications of nanofluids in solar energy: A review of recent advances. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. **2018**, 82, 3, 3483-3502.
13. FARIQ, A., KHAN, T., YASMIN, A. Microbial synthesis of nanoparticles and their potential applications in biomedicine. *Journal of Applied Biomedicine*. **2017**, 15, 4, 241-248.
14. FOLLE, L., F., SCHAEFFER, L. Avaliação das condições tribológicas em estampagem de chapas através do ensaio de dobramento sob tensão. *Revista Matéria*. **2017**, v. 22, 2, 1-15.
15. FOROUGHI, F., HASSANZADEH-TABRIZI, S., A., AMIGHIAN, J., SAFFAR-TELURI, A. A designed magnetic CoFe2O4– hydroxyapatite core–shell nanocomposite for Zn(II) removal with High efficiency. *Ceramics International*. **2015**, 41, 5, 6844-6850.
16. FUSKELE, V., SARVIYA, R., M. Recent developments in nanoparticles synthesis, preparation and stability of nanofluids.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Materials Today. **2017**, 4, n. 2, 4049-4060.

17. GOUDARZI, K., NEJATI, F.,SHOJAEIZADEH, E.,YOUSEF-ABAD, S., K., A. Experimental study on the effect of pH variation of nanofluids on the thermal efficiency of a solar collector with helical tube. *Experimental Thermal and Fluid Science*. **2015**, 60, 20-27.
18. GUPTA, M., SINGH, V., KUMAR, R., SAID, Z. A review on thermophysical properties of nanofluids and heat transfer applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. **2017**. 74, 638-670.
19. GU/ZMAN, A., ARROYO, J., VERDE, L., RENGIFO, J. Synthesis and characterization of copper nanoparticles/polyvinylchloride (CNPs/PVC) nanocomposites. *Procedia Materials Science.* **2015***,* 9, 298-304.
20. HAMILTON, R., L., CROSSER, O., K. Thermal conductivity of heterogeneous two-component systems. *Ind. Eng. Chem. Fundam.* **1962**, 1, 3, 187–191.
21. HO, P., Y., YIU, S., C., WU, D., Y., HO, C., L., WONG, W., Y. One-step synthesis of platinum nanoparticles by pyrolysis of a polyplatinyne polymer. *Journal of Organometallic Chemistry*. **2017**, 849-850, 4-9.
22. HU, L.,PERCHERON, A., CHAUMONT, D., BRACHAIS, C., H. Microwave-assisted one-step hydrothermal synthesis of pure iron oxide nanoparticles: magnetite, maghemite and hematite. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*. **2011**, 60, 2, 198-205.
23. HUMINIC, A., HUMINIC, G., FLEACA, C., DUMITRACHE, F., MORJAN, I. Thermal conductivity, viscosity and surface tension of nanofluids based on FeC nanoparticles. *Powder Technology*. **2015**, 284, 78–84.
24. JALAL, R.,GOHARSHADI, E., K., ABARESHI, M., MOOSAVI, M., YOUSEFI, A., NANCARROW, P. ZnO nanofluids: Green synthesis, characterization, and antibacterial activity. *Materials Chemistry and Physics*. **2010**, 121, 1–2, 198-201.
25. JEONG, S., H., KO, J., H., PARK, J., B., PARK, W. A Sonochemical Route to Single-Walled Carbon Nanotubes under Ambient Conditions. *Journal of American Chemical Society*. **2004**, 126, 49, 15982-15983.
26. JORDAN, A., SCHOLZ, R., WUST, P., FÄHLING, H., FELIX, R. Magnetic fluid hyperthermia (MFH): Cancer treatment with AC magnetic field induced excitation of biocompatible superparamagnetic nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. **1999**, 201, 413-419.
27. JOUYBARI, H., J., SAEDODIN, S., ZAMZAMIAN, A., NIMVARI, M., E., WONGWISES, S. Effects of porous material and nanoparticles on the thermal performance of a flat plate solar collector: An experimental study. *Renewable Energy*. **2017**, 114, 1407-1418.
28. KAO, M., J., LO, C., H., TSUNG, T., T., WU, Y., Y., JWO, C., S., LIN, H., M. Copper-oxide brake nanofluid manufactured using arc-submerged nanoparticle synthesis system. *Journal of Alloys and Compounds*. **2007**, 434–435, 672-674.
29. KAO, M., J., HO, C., WU, Y., Y., TSUNG, T., T., LIN, H., M. Producing Aluminum-oxide brake nanofluids using plasma charging system. *Journal of Alloys and Compounds*. **2007**, 28, 2, 123-131.
30. KANG, S., W., WEI, W., C., TSAI, S., H., HUANG, C., C. Experimental investigation of nanofluids on sintered heat pipe thermal performance. *Applied Thermal Engineering*. **2009**, 29, 973-979.
31. KEFENI, K., K., MSAGATI, T, A., M., MAMBA, B., B. Ferrite nanoparticles: Synthesis, characterization and applications in electronic device. *Materials Science and Engineering B*. **2017**, 215, 1, 37-55.
32. KIM, Y., S., KIM, Y., H. Application of ferro-cobalt magnetic fluid for oil sealing. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. **2003**, 267, 105–110.
33. KLEINSTREUER, C., LI, J.,KOO, J. Microfluidics of nano-drug delivery. *International Journal of Heat and Mass Transfer*. **2008**, 51, 23–24, 5590-5597.
34. KOLE, M., DEY, T., K. Enhanced thermophysical properties of copper

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

nanoparticles dispersed in gear oil. *Applied Thermal Engineering*. **2013**, 56, 45-53.

35. LI, Y., ZHOU, J., TUNG, S., SCHNEIDER, E., XI, S. A review on development of nanofluid preparation and characterization. *Powder Technology*. **2009**, 196, 2, 89-101.
36. LIU, Z., H., HU, R., L., LU, L., ZHAO, F., XIAO, H., S. Thermal performance of an open thermosyphon using nanofluid for evacuated tubular high temperature air solar collector. *Energy Conversion and Management*. **2013**, 73, 135-143.
37. LU, L., ZHEN-HUA LIU, Z., H., XIAO, H., S. Thermal performance of an open thermosyphon using nanofluids for high-temperature evacuated tubular solar collectors Part 1: Indoor experiment. *Solar Energy*. **2011**, 85, 2, 379-387.
38. LYON, D., Y., ALVAREZ, P., J. Fullerene water suspension (nC60) exerts antibacterial effects via ROS-independent protein oxidation. *Environmental Science and Technology.* **2008**, 42, 21, 8127-8132.
39. MAHIAN, O., KIANIFAR, A., SAHIN, A., Z., WONGWISESC, S. Performance analysis of a minichannel-based solar collector using different nanofluids. *Energy Conversion and Management.* **2014***,* 88, 129-138.
40. MITAMURA, Y., ARIOKA, S., SAKOTA, D., SEKINE, K., AZEGAMI, M. Application of a magnetic fluid seal to rotary blood pumps. *Journal of Physics: Condensed Matter*. **2008**, 20, 20, 1-5.
41. MOUSSA, M., G. Effect of nanofluid concentration on the performance of circular heat pipe. *Ain Shams Engineering Journal*. **2011**, 2, 63-69.
42. NAPHON, P., THONGKUM, D., ASSADAMONGKOL, P. Heat pipe efficiency enhancement with refrigerant–nanoparticles mixtures. *Energy Conversion and Management*. **2009**, 50, 3, 772-776.
43. NGUYEN, C., T., ROY, G., GAUTHIER, C., GALANIS, N. Heat transfer enhancement using Al2O3 - H2O nanofluid for an electronic liquid cooling system. *Applied Thermal* Engineering. **2007**, 27, 1501-1506.
44. NGUYEN, C., T., DESGRANGES, F., GALANIS, N., ROY, G., MARÉ, T., BOUCHER, S., MINTSA, H., A. Viscosity data for Al2O3–water nanofluid—hysteresis: is heat transfer enhancement using nanofluids reliable? *International Journal of Thermal Sciences*. **2008**, 47, 103-111.
45. NOGHREHABADI, A., R., HAJIDAVALOO, E., MORAVEJ, M. An experimental investigation on the performance of a symmetric conical solar collector using SiO2/water nanofluid. *Transp Phenom Nano Micro Scales.* **2017**, 5, 23-29.
46. OLLIVIER, E., BELLETTRE, J., TAZEROUT, M. Detection of knock occurrence in a gas SI engine from a heat transfer analysis. *Energy Conversion and Management*. **2006**, 47, 7–8, 879-893.
47. OTANICAR, T., P., PHELAN, P., E., PRASHER, R., S., ROSENGARTEN, G., TAYLOR, R., A. Nanofluid-based direct absorption solar collector. *Journal of Renewable and Sustainable Energy*. **2010**, 2, 1-13.
48. OVSIANIKOV, A., CHICHKOV, B., MENTE, P., MONTEIRO-RIVIERE, N., A., DORAISWAMY, A., NARAYAN, R., J. Two Photon Polymerization of Polymer–Ceramic Hybrid Materials for Transdermal Drug Delivery. *Int. J. Appl. Ceram. Technol.* **2007**, 4, 22–29.
49. OZERINÇ, S., KAKAÇ¸ S., YAZICIOGLU, A., G. Enhanced thermal conductivity of nanofluids: A state-of-the-art review. *Microfluid and Nanofluid*. **2010**, 8, 2, 145–170.
50. PAL, S., L., JANA, U., MANNA, P., K., MOHANTA, G., P., MANAVALAN, R. Nanoparticle: An overview of preparation and characterization**.** *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. **2011**, 1, 6, 228-234.
51. PALM, S., ROY, G., NGUYEN, C., T. Heat transfer enhancement with the use of nanofluids in radial flow cooling systems considering temperature-dependent properties. *Applied Thermal Engineering*. **2006**, 26, 17-18, 2209–2218.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

52. PEYGHAMBARZADEH, S., M., HASHEMABADI , S., H., NARAKI , M., VERMAHMOUDI, Y. Experimental study of overall heat transfer coefficient in the application of dilute nanofluids in the car radiator. *Applied Thermal Engineering*. **2013**, 52, 18-16.

53. RAHMAN, M., M., MOJUMDER , S., SAHA, S., MEKHILEF, S., SAIDUR, R. Augmentation of natural convection heat transfer in triangular shape solar collector by utilizing water-based nanofluids having a corrugated bottom wall. *International Communications in Heat and Mass Transfer*. **2014**, 50, 117-127.

54. ROBERTIS, E., COSME, E., H., H., NEVES, R., S., KUZNETSOV, A., Y., CAMPOS, A., P., C., LANDI, S., M., ACHETE, C., A. Application of the modulated temperature differential scanning calorimetry technique for the determination of the specific heat of copper nanofluids. *Applied Thermal Engineering*. **2012**, 41, 10-17.

55. SAEEDINIA, M., AKHAVAN-BEHABADI, M., A., RAZI, P. Thermal and rheological characteristics of CuO–Base oil nanofluid flow inside a circular tube. *International Communications in Heat and Mass Transfer*. **2012**, 39, 152-159.

56. SAIDUR, R., LEONG, K. Y., MOHAMMAD, H. A. A review on applications and challenges of nanofluids. *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* **2015**, 15, 1646-1668.

57. SHAWGO, R., S., GRAYSON, A., C., R., LI, Y., CIMA, M., J. BioMEMS for drug delivery. *Current Opinion in Solid State and Materials Science.* **2002**, 6, 4, 329-334.

58. SHIMA, P., PHILIP, J., RAJ, B. Synthesis of aqueous and nonaqueous iron oxide nanofluids and study of temperature dependence on thermal conductivity and viscosity. *Journal of Physical Chemistry*. **2010**, 114, 44, 18825–18833.

59. SHEHATA, F., FATHY, A., ABDELHAMEED, M., MOUSTAFA, S., F. Preparation and properties of Al2O3 nanoparticle reinforced copper matrix composites by in situ processing. *Materials and Design*. **2009**, 30, 7, 2756-2762.

60. SHEN, B., SHIH, A., J, TUNG, S., C. Application of Nanofluids in Minimum Quantity Lubrication Grinding. *Tribology Transactions*. **2008**, 51, 6, 730-737.

61. SILVA, A. C. M. Transferência de calor em nanofluidos - Potencialidades e desafios. **2010**, 85 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Departamento de Química, Universidade de Aveiro, Aveiro, Portugal.

62. SRIDHARA, V., GOWRISHANKAR, B., S., SNEHALATHA, SATAPATHY, L., N. NanoFluids—A New Promising Fluid for Cooling. *Transactions of the Indian Ceramic Society*. **2015**, 68, 1-17.

63. SUI, D., LANGÅKER, V., H., YU, Z. Investigation of thermophysical properties of Nanofluids for application in geothermal energy. *Energy Procedia*. **2017**, 105, 5055-5060.

64. SURESH, S., VENKITARAJ K., P., SELVAKUMAR, P., CHANDRASEKAR, M. Synthesis of Al_2O_3–Cu/water hybrid nanofluids using two step method and its thermo physical properties. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. **2011**, 388, 1-3, pp. 41-48.

65. TAWFIKI, M., M. Experimental studies of nanofluid thermal conductivity enhancement and applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. **2017**, 75, pp. 1239-1253.

66. TRIPATHI, D., BÉG, O., A. A study on peristaltic flow of nanofluids: Application in drug delivery systems *International Journal of Heat and Mass Transfer*. **2014**, 70, 61-70.

67. TZENG, S., C., LIN, C., W., HUANG, K., D. Heat transfer enhancement of nanofluids in rotary blade coupling of four-wheel-drive vehicles. *Acta Mechanica*. **2005**, 179, 1–2, 11–23.

68. WEI, X., ZHU, H., KONG, T., WANG, L. Synthesis and thermal conductivity of Cu2O nanofluids. *International Journal of Heat and Mass Transfer*. **2009**, 52, 19-20, pp. 4371-4374.

69. XUAN, Y., LI, Q. Heat transfer enhancement of nanofluids. *International*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Journal of Heat and Fluid Flow. **2000**, 21, 58-64.

70. YU, F., CHEN, Y., LIANG, X., XU, J., LEE, C., LIANG, Q., TAO, P., DENG, T. Dispersion stability of thermal nanofluids. *Progress in Natural Science: Materials International*. **2017**, 27, 531-542.
71. YU, W., XIE, H. A Review on Nanofluids: Preparation, Stablity Mechanisms, and Applications. *Journal of Nanomaterials*. **2012**, Article ID 435873: 1-17.
72. YU, W., XIE, H., CHEN, L., LI, Y. Enhancement of thermal conductivity of kerosene-based Fe_3O_4 nanofluids prepared via phase-transfer method. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects*. **2010**, 355, 1-3, 109-113.
73. YU, W., XIE, H., WANG, X., WANG, X. Significant thermal conductivity enhancement for nanofluids containing graphene nanosheets. *Physics Letters A*. **2011**, 375, 7, 1323-1328.
74. YU, H., L., XU, Y., SHI, P., J., XU, B., S., WANG, X., L., LIU, Q. Tribological properties and lubricating mechanisms of Cu nanoparticles in lubricant. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*. **2008**, 18, 3, 636-641.
75. ZAMZAMIAN, A., H., KEYANPOURRAD, M., KIANINEYESTANI, M., JAMAL-ABAD, M., T. An experimental study on the effect of Cu-synthesized/EG nanofluid on the efficiency of flat-plate solar collectors. *Renewable Energy*. **2014**, 71, 658-664.
76. ZHANG, L., JIANG, Y., DING, Y., POVEY, M., YORK, D. Investigation into the antibacterial behavior of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids). *Journal of Nanoparticle Research*. **2007**, 9, 3, 479–489.
77. ZHOU, S., Q., NI, R. Measurement of the specific heat capacity of water-based Al2O3 nanofluid. *Applied Physics Letters*. **2008**, 92, 9, 093123: 1-3.
78. ZHOU, J., WU, Z., ZHANG, Z., LIU, W., XUE, Q. Tribological behavior and lubricating mechanism of Cu nanoparticles in oil. *Tribology Letters*. **2000**, 8, 4, 213-218.
79. ZHU, H., T., LIN, Y., S., YIN, Y., S. A novel one-step chemical method for preparation of copper nanofluids. *Journal of Colloid and Interface Science*. **2004**, 277, 100-103.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INVESTIGAÇÃO DE ALGUNS AGENTES PERIGOSOS E TRAÇOS DE ELEMENTOS NA ÁGUA POTÁVEL DA REGIÃO DE KOCAELI

INVESTIGATION OF SOME HAZARDOUS AGENTS AND TRACE ELEMENTS IN DRINKING WATER OF KOCAELI REGION

KIZILÖZ, Burak

Doctor of Civil Engineering
Kocaeli Great Municipality, Water and Sewerage Administration, Turkey, Kocaeli
Guzeller Neighbourhood, Şehit Mevlüt Duru Road, Building No: 10, Gebze (District) / Kocaeli

e-mail: burakkiziloz@gmail.com

Received 12 October 2018; received in revised form 20 October 2018; accepted 24 October 2018

RESUMO

Todas as questões estão relacionadas com a ecologia ambiental, a qualidade da água potável obtém uma importância particular agora, no século XXI. Como um estudo de caso, o artigo discute a qualidade da água potável na região de Kocaeli, na Turquia. A análise foi feita para revelar o principal agente poluente na água potável. Investigou-se a presença de metais como Al, Cu, Zn, Fe, Cd, Pb, Mn, Ni, Na e Hg. Não Metais como B, F, Cl, Cl Livre, NH_4, Amônia, Nitrogênio (NH_3-N). Os metais pesados incluíram Cd, Pb, Mn, Ni, Hg, Cu, Fe e Zn. E agentes orgânicos, como Beta-Endosulfato, Benz(a)antraceno, Benz(a)pireno, Benzeno, Bromodiclorometano, Carbaril e Fenantreno. Separadamente foi investigada a concentração de iodo na água potável devido à água que vinha das montanhas e o iodo pode ser lavado das rochas e penetrado na água. Os resultados estão discutindo. Segundo a pesquisa é claro que a água na região de Kocaeli, a Turquia é limpa e segura para beber. Existe alguma quantidade de iodo, mas a sua quantidade depende das estações. Foi elaborada fórmula para contagem da concentração média de iodo no organismo humano após um mês de consumo de água.

Palavras-chave: *Poluição da água, Agentes poluentes; Metais pesados em água, Quantidade de iodo; Equação para contagem de iodo.*

ABSTRACT

All the issues are related to environmental ecology, drinking water quality obtains particular importance in the 21st century. As a case study, the article discusses the drinking water quality in Kocaeli region, Turkey. The analysis was done for revealing the main pollutant agent in the drinking water. It was investigated the presence of metals such as Al, Cu, Zn, Fe, Cd, Pb, Mn, Ni, Na, and Hg. Following Non-Metals : B, F, Cl, Free Cl, NH_4, Ammonia, Nitrogen (NH_3-N). Heavy metals ions included Cd, Pb, Mn, Ni, Hg, Cu, Fe, and Zn. And Organic agents such as Beta-Endosulfan, Benzo(a)pyrene, Benzene, Bromodichloromethane, Carbaryl, and Fhenanthrene. Separately was investigated Iodine concentration in the drinking water due to water came from mountains and Iodine can be washed out from the rocks and entered in the water. The results are discussing. According to the research is clear that water in the Kocaeli region, Turkey is cleaned and safe for drinking. There is some amount of Iodine but its quantity depends on the seasons. Was elaborated formula for counting average concentration of Iodine in the human body after one-month drinking water.

Keywords: *Water pollution, Pollutants agents; Heavy metals in water, Quantity of Iodine; Equation for counting Iodine.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUCTION

Water quality issues are a major challenge that humanity is facing in the twenty-first century. Throughout history, the quality of drinking water has been the main factor to determine human welfare. Different pollution of drinking water has frequently caused waterborne diseases that have decimated the populations in the cities [1]. Unwholesome water, polluted by natural sources, has caused great hardship for people forced to drink it or use it for irrigation. Accessing to safe drinking water has improved over the last decade in almost every part of the world, but approximately one billion people still lack accessing to safe water and over 2.5 billion lack accessing to adequate sanitation. There are general types of drinking water pollutants (see Table 1).

Nowadays among pollutants most dangerous and spreading heavy metals, which reach water systems in natural and anthropogenic ways. Trace elements are essential for human life but they can be toxic depending on the concentration [2].

Some trace elements can be met in water [3].

In the article, we are providing research on drinking water in Kocaeli region. The research was done during 2017 and in the first part of 2018. Was measured almost all importance hazardous elements and among them was done microbiological analyzes.

Kocaeli region is located in the easternmost end of the Marmara Sea around the Gulf of Izmit. Kocaeli is bordered by the province of Istanbul and the Marmara Sea to the west, the Black Sea to the north, the province of Sakarya to the east, the province of Bursa to the south and the province of Yalova to the southwest.

Drinking water in Kocaeli province is received from Yuvacık Dam, Namazgah Dam, and local resources. In Kocaeli, 160.822.229 m^3 of drinking water provided in 2017 and 2018 was provided from 132.241.452 m^3 of the dam and 28.580.777 m^3 from local sources. Therefore, all water samples were taken from this area (see Figure 1). Generally, in Kocaeli region, there is a lot of different type of water cleaning systems, among them Natural treatment systems and water can be used as drinking from the tap [4].

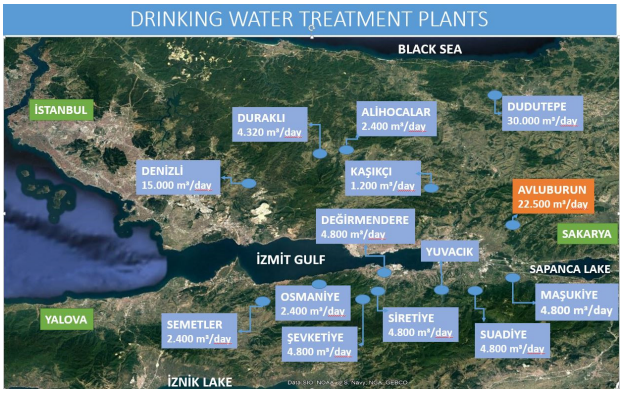


Figure 1. Avluburun drinking water treatment plant

EXPERIMENTS AND METHODS

Water samples were collected from Avluburun drinking water treatment plant which is treatment capacity 22.500 m^3/day. Local sources formed by the precipitation of snow and rainwater are used as a raw water source and extra raw water is made from Sapanca lake in the summer. As soon as the raw water arrives, it is passed through the phases in a controlled and supervised manner and conducted to the network for human consumption purposes. These phases respectively; Blower, flocculation- coagulation, sedimentation, filtration, neutralization and in case of needing disinfection, conditioning. The monitoring of the control is carried out by taking the samples from the predetermined points of the network at weekly periods. Samples which both in and out of the plant as well as instantly in accordance with the technique of the specific points in the network are taken by specialist team weekly. In addition, measurement is carried out for parameters such as free chlorine.

Almost every major pollutants in the water were examined: Metals and heavy metals among them, Non-metals, cations and anions, total dissolved solids and organic meter. Also, the bacteriological examination was done. Frequent bacteriological examinations are essential for hygienic control. Methods used by us are more relevant for water with chlorine disinfection. All used measurement methods are under Turkish Standards Institution (TSE) [5] and EU (European Association) standards [6].

The following parameters were measured in the laboratory: cations, anions, nutrients, BOD5, heavy metals. Field analysis of physical-chemical (dissolved oxygen, pH, temperature,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

salinity) parameters were determined on the sampling site with the mobile devices; Laboratory analysis of samples, in particular, cations, anions, nutrients were made in accordance with the following methods: SM 2540 D; TS EN ISO 11885; Membrane Filtration; TS EN ISO 10304-1; SM 2510 B; SM 5220 B; SM 2120 C; SM 2550 B; EPA 200.8; SM 4500 Sulphate-D; TS EN ISO 14911; TS EN ISO 9308-1; TS EN ISO 7899-2;

The received results see in Table 2, 3, 4, 5, 6, 7.

We must especially emphasize the matter of iodine in drinking water. In terms of the effect of iodine deficiency on intellectual development, there has been a growing wealth of literature from different parts of the world including both developed and developing countries[7]. The detrimental effects of iodine deficiency on intellectual development, particularly in terms of the intelligence quotient (IQ) as a common assessment of intelligence, in children, have been demonstrated in all studies.

It is well known, that in the regions where drinking water contains 0.0001-0.001mg I_2 e.g. 0.1-1.0 micro/gram per litter water, from 1000 habitants 15-30 suffers from an illness of Goiter[8]. Where Iodine content per litter water is 0.001-0.01 mg, was registries one case of Goiter from 1000 habitants. In the modern worlds there is a solution to this problem with Iodized salt but its contents in water, even in small quantity, also is very important.

Iodine in water is normally determined by a titrimetric procedure which can be used for solutions containing 2–20 mg of iodine per liter. A leuco crystal violet method may be used for the determination of iodide or molecular iodine in water. This photometric method is applicable to iodide concentrations of 50–6000 µg/ liter; the detection limit for iodine is 10 µg/ liter [9]. We used TS EN ISO 10304-1 methodology for more exact determination iodine in our samples. The received results see in Table 8.

RESULTS AND DISCUSSION:

According to the research conducted, the metals in Kocaeli region are within the norm. Within the Turkish drinking water quality standards[5], the maximum number of **aluminum** is 1-200 µg/L per liters of water. Generally, Al in the surface water can appear after using from population cheap detergents, shampoos and Dushe Gels[10]. In this type of home chemistry, Al is as aluminum sulfate $Al_2(SO_4)_3$. Removing it from water is quite problematic. According to the result of our research, the number of it is always low.

According to Turkish standards, the maximum number of **Manganese** per liters of water is 50 µg/L. According to our research to quantity is always under the norm and at the end of 2017. Its contents in the water decrease sharply. During the first part of 2018, it is under the limit. This indicates reliable protection of the environment.

Ni is quite poisoning metal which in the surface water appears from Industry. According to Turkish standards, the maximum number of **Nickel** in liters of water is 20 µg/L. In our research was used two type of methods for measurement: TS EN ISO 7294-2 and TS EN ISO 11885. According to the two methods in the water is the minimum number of Ni. In the second part of 2017, its quantity was equal to zero. During the first part of 2018, it is under the limit.

Sodium is light metal in the water it can appear from detergents. According to Turkish standards, the maximum number of Na in liters of water is 0.1 mg/l. After our research is clear that maximum number was found only in August 2017. During the first part of 2018, it is under the limit.

Cu, Zn, Fe, Cd, Pb are very **dangerous heavy** metals. Most of them have a tremendous affinity for sulfur and disrupt enzyme function by forming bonds with sulfur groups in enzymes.

According to Turkish standards, the maximum number of **Copper** per liters of water is 100µg/L. According to our research, it was within limits and in the second part of 2017, it was totally removed from the water. During the first part of 2018, it is under the limit.

According to Turkish standards, the maximum number of **Zinc** per liter of water is 1 µg/L. According to our research, it was totally removed from the water.

According to Turkish standards, the maximum number of **Iron** per liter of water is 0.2 µg/L (0.0002mg/l). According to our research, it was within limits.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Cadmium as mentioned above a heavy metal. Mainly, it is spreading with zinc extract from its extraction deposits. Also, it may arise from industrial discharges and mining wastes. According to Turkish standards, the maximum number of Cd per liters of water is 5 µg/L (0.005 mg/l). According to our research, it was totally removed from the water. This refers to reliable clean water because it is well known that even ecologically very cleaned soil contains ions of Cd from where it can appear in the surface water.

According to Turkish standards the maximum number of **Lead** per liters of water is10 µg/L. In our research, two type of methods were used: TS EN ISO 7294-2 and TS EN ISO 11885. According to to the first method, it is under the limit and the second method reveals that there is no Pb in the water.

Mercury is the most dangerous heavy metal. Toxicological data indicate that mercury is a cumulative poison. Mercury enters the environment from a large number of miscellaneous sources related to human use of the element. According to researches, Hg is within limits.

All heavy metals can be appeared in the water due to human activities.

According to the investigation [2] by using equation (1) can be calculated the possible impact of heavy metals on human health.

$$ADIW_{ing}=C\times IR\times EF\times ED/BW\times AT \qquad \text{(Eq.1)}$$

Were:

$ADIW_{ing}$ is the average daily intake of heavy metals ingested from water (mg/kg-day);

C is the heavy metal concentration in water (µg/L).

IR is the daily intake of water, approx. 2L/day. **ED** is the exposure duration, approx. 70 years. **EF** is the exposure frequency, 365 days/year.

AT is the time period over which the dose is averaged, 365×70=25.550 days. BW is the body weight of the exposed individual (70kg approx.) [2].

At the same time can be calculated e.g. “Hazard quotient” (HQ) by equation (2).

$$HQ=ADI/RfD \qquad \text{(Eq.2)}$$

Were:

ADI is a value obtained from the previous equation.

RfD is chronic reference dose values are generally calculated [2].

For our water samples, the values calculated from equation (1) and (2) is given in Table 9.

The research of nonmetals B, F, Cl_2 was done.

According to Turkish standards, the maximum number of **Boron** per liters of water is 1.0 mg/L. The maximum number of **F** is 4.0 mg/L and a number of free **Cl_2** is 250 mg/L. According to our research, all of them were under the limit.

The research of **nitrite, nitrate** and **sulfate** ions were done. Generally, Nitrite and nitrate ion occurs in water as an intermediate oxidation state of nitrogen. Nitrite is added to some industrial process water to inhibit corrosion. The sulfate ion is found in some industrial wastewaters. Sodium sulfate is commonly added to boiler feed waters as an oxygen scavenger. According to Turkish and European standards, the maximum number of Nitrite in liters of water is 50 µg/L, nitrate 3 µg/L, sulfate 250mg/l. According to our research, all parameters were under the limit.

The water pH value was also measured in this study. According to standards it equals 6.5-8.5 and is under the limit. According to the same research was done an analysis of some organic agents (Table 7) which also were under regulations.

Regarding **Iodine,** we got very interesting results. As previously it was mentioned, the content of iodine in water prevents the population from illness of Goiter. In our samples, there were found some quantity of Iodine (Table 9). Maximum of them we found in samples collected in the springtime. We can explain this by the fact that it often rains in Kocaeli region in springtime. Because of rains Iodine in rocks is washes out in large quantities and enters in the water.

Among Kocaeli, population illness of Goiter is very low. Of course, we can think that this is due to Kocaeli location near seaside and Iodine evaporation from the seaweed in the air[9]. But iodine-containing water factor also very important.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

To finding out how many Iodine can be arrived in the human body after one monthly regular drinking water from Kocaeli, by us was developed the following equation (3).

Suppose a person's weight is 70kg, he/she drink 2-liter water per day, where is some quantity of Iodine (see Table 9). We calculated for maximum indexes-4.19 µg/L (2017 springtime) and 3.89 µg/L (2018 springtime) (see Table 9).

Than:

Continuance time= Total mass of Iodine/rate of intake (Eq.3)

The rate of intake can be calculated with the following way:

The rate of intake *= amount of water, drinking by person per day × amount of Iodine measured in the water samples × water drinking duration (number of days).*

E.g:

Rate of intake = 2000 g water (2 liter = 2000 ml = 2000 g) × 4.19 µg/L **or** 3.89 µg/L × 7day = 5.866×10^4 **or** 5.446×10^4 (Eq.4)

Continuance time *(in our case one month = 30 Day) = Total mass of Iodine/*5.866×10^4 ***or*** 5.446×10^4 (Eq.5)

From equation (5):

The total mass of Iodine *= Continuance time × Rate of intake* (Eq.6)

E.g:

The total mass of Iodine = 30 Day × 5.866×10^4 ***or*** 5.446×10^4

The total mass of Iodine is then:

For maximum indexes for 2017: 1.7598×10^6 and for the first part of 2018: 1.6338×10^6.

For person daily intake of iodine by an individual amount is 500 micrograms [11], monthly is 1.5×10^4

So, if the person will drink Kocaeli water regularly some average amount of Iodine will be arrived in his/her body. Another part of Iodine he/she can take from the food and iodized salt.

The different problem appears in the water with Bacterial organisms. Throughout any year, 95% of samples should not contain any coliform organisms in 100 ml. No sample should contain *E. coli* in 100 ml. Coliform organisms should not be detectable in 100 ml of any two consecutive samples[12,13,14]. According to our research drinking water is totally free from bacterial organisms.

CONCLUSIONS:

Thus, according to measurements of different hazardous agents, trace elements and bacterial organisms in the drinking water we can conclude that all of them are under the EU and Turkish standards.

Among trace elements, the main attention was paid to the measurement of Iodine in the water because nowadays, lack of Iodine among the population is the international problem. We find out that in the water of Kocaeli region there is some amount of Iodine. It is of course, not enough for daily demands of this element but a regular drink of water will take part for prevention of Goiter disease.

Besides this, in the scope of the investigation was developed a formula for calculated theoretically how many Iodine could arrive in the human body after one-month drinking water from Kocaeli region.

Thus, we can conclude that the Kocaeli region the tap water is useful and safe for drinking.

REFERENCES:

1. Hazrat, A., Ezzat, K. *Environ Chem Lett*, **2016**, 22, 321-332.
2. Karahan, G., Taşkın, H. Bingöldağ, N., Kardan, E. *Turkish Journal of Chem*istry, **2018**, 42(3):735-747.
3. Williams J., "Environmental Chemistry", J.Wiley & Sons, Canada. **2012**.
4. Kızılöz B., Kupatadze K. *J. the Quimica.* **2015,**23, 47-55.
5. Bakir, B., Babayigit, M., Tekba, O. *International Journal of Health Science and Research,* **2015**, 5, 257-265.
6. European Public Health Association. Standard methods for the examination of drinking water.22th.ed.**2016**.
7. Bozkurt, E., Erdin, N,. Gunes G,. Sonmez S. *Oxidation Communications*, **2016**, 1,746–752.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

8. Bhatia, S.C. “Environmental Chemistry”, CBS Publishers and Distributors Pvt. Ltd, **2013**.
9. Sutton, R, Rockett, B. “Chemistry for the Life Sciences”, Taylor & Francis Group, **2008**.
10. VanLoon, G. W. “Environmental Chemistry-a global perspective”, Oxford Group, **2011**.
11. Baynes, J., Dominiczak, M. “Medical Biochemistry”, Elsevier, **2014**.
12. International Standards for drinking water. World Health Organization. Geneva. **2008**.
13. Lopes, V. *the Quimica*. **2017**. 27.139-146.Shamsun, N., Zhang, J. *Environmental Geochem Health*, **2012**, 34,141-150.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 1. General types of water pollutants

Class of pollutant	Significance
Trace elements	Health, aquatic biota
Heavy metals	Health, aquatic biota
Organically-bound metals	Metal transport
Radionuclide	Toxicity
Inorganic pollutant	Toxicity, aquatic biota
Asbestos	Human health
Algal nutrients	Eutrophication
Acidity, alkalinity, salinity	Water quality, aquatic life
Trace organic pollutant	Toxicity
Polychlorinated biphenyls	Possible biological effects
Pesticides	Toxicity, aquatic biota, wildlife
Petroleum wastes	Effects on wildlife, esthetics
Sewage, human, animal wastes	Water quality, oxygen levels
Biochemical oxygen demand	Water quality, oxygen levels
Pathogens	Health effects
Detergents	Eutrophication, wildlife, esthetics
Chemical carcinogens	Incidence of cancer
Sediments	Water quality, aquatic biota, wildlife
Taste, odor and color	Esthetics

Table 2. Content of metals in drinking water

Metals	Methods	Unit	Standard	2017		2018 (first period)	
				Max	Min	Max	Min
Al	TS EN ISO 7294-2	µg/L	1-200	180	10	140	15
Cu	TS EN ISO 7294-2	µg/L	100	12	0	11	0
Zn	TS EN ISO 11885	µg/L	1	1	0.01	1	0.01
Fe	TS EN ISO 7294-2	mg/L	0.2	0.13	0.01	0.11	0
Cd	EN ISO 7294-2	mg/L	0.005	0.001	0	0.002	0
Pb	TS EN ISO 7294-2	µg/L	10	0.8	0	2	0
Mn	TS EN ISO 7294-2	µg/L	50	20	0,5	15	0,1
Ni	TS EN ISO 7294-2	µg/L	20	0.38	0.01	0.96	0.01
Na	EPA 200.8	mg/L	0.1	18.13	6.08	22.14	4.03
Hg	EPA 200.8	µg/L	0.1	0.05	0	0.04	0

Table 3. Content of non-metals in drinking water

Non-Metals	Methods	Unit	Standard	2017		2018 (first period)	
				Max	Min	Max	Min
B	TS EN ISO 17294-2	mg/L	1	0.001	0	0	0
F	TS EN ISO 10304-1	mg/L	4	0.07	0.02	0.08	0.04
Cl	TS EN ISO 10304-1	mg/L	250	1.08	0.12	1.24	0.08
Free Cl	Hack	mg/L	=0.5	0.82	0.55	0.78	0.52
NH_4	Hack	mg/L	0.2	0.08	0.01	0.12	0.02
Ammonia Nitrogen (NH_3-N)	Hack	mg/L	0.2	0.1	0.01	0.1	0.01

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 4. Content of some anions in drinking water

Anions	Methods	Unit	Standard	2017		2018 (first period)	
				Max	Min	Max	Min
Nitrate (NO_3)	TS EN ISO 10304-1	mg/L	0.5	0.1	0.01	0.13	0.01
Nitrit (NO_2)	TS EN ISO 10304-1	mg/L	3	-	-	-	-
Sulfat (SO_4)	TS EN ISO 10304-1	mg/L	250	-	-	-	-

Table 5. Different characteristics of drinking water

Others	Methods	Unit	Standard	2017		2018 (first period)	
				Max	Min	Max	Min
Blurs	Hack	NTU	<1	0.56	0.10	0.65	0.14
Conductivity		µS/cm	<2500	120	70	145	63
PH	SM 4500 H + B	-	6-9	7.9	7.4	8.1	7.3
Color	SM 2120 C	Pt-Co	<10	0	0	0	0
Temperature ºC	SM 2550 B	ºC	-	16	8	17	7
Suspended Solid	SM 2540 D	mg/L	-	-	-	-	-
Total Hardness	Hack	mg/L	°Fr	9.0	7.6	10.2	8.1

Table 6. Organic pollutants

Organic Agents	Methods	Unit	Standard	2017		2018 (first period)	
				Max	Min	Max	Min
Beta-Endosulfan	EPA 538	mg/L	>1	0	0	0.01	0
Benzo (a)antracene	EPA 538	mg/L	mg/L	0	0	0	0
Benzo (a) pyrene	EPA 538	mg/L	>1	0	0	0.01	0
Benzene	EPA 538	mg/L	>0.01	0	0	0	0
Bromodichloromethane	EPA 538	mg/L	>1<4	0	0	0	0
Carbaryl	EPA 538	mg/L	---	0	0	0	0
Fhenanthrene	EPA 538	mg/L	---	0.001	0	0	0

Table 7. Bacterial characteristics of drinking water

Bacterial analysis	Methods	Unit	Standard	2017		2018 (first period)	
				Max	Min	Max	Min
E-Koli	TS EN ISO 9308-1	kob/ 100ml	0	0	0	0	0
Enterococcus	TS EN ISO 7899-2	kob/ 100ml	0	0	0	0	0
Coliform Bacteria	SM 9222 D	kob/ 100ml	0	0	0	0	0
Colony Count 22°C	TS EN ISO 6222	kob/ml	<20	0	0	0	0
Total Coliform	TS EN ISO 9308-1	kob/ 100ml	0	0	0	0	0

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 8. Iodine in drinking water

Seasons	Methods	Unit	Standard	2017		2018 (first period)	
				Max	Min	Max	Min
Winter	TS EN ISO 10304-1	µg/L	4-18	3.01	1.08	Not Measured	Not measured
Spring	TS EN ISO 10304-1	µg/L	4-18	4.19	2.25	3.89	1.58
Summer	TS EN ISO 10304	µg/L	4-18	2.07	0.01	1.93	0.78
Autumn	TS EN ISO 10304	µg/L	4-18	1.08	0.14	1.74	0.22

Table 9. ADIW and HQ values for some hazardous metals in Kocaeli region

Heavy metals ions	ADIWing		HQ	
	2017	2018	2017	2018
Cd	0.029	0.057	58	114
Pb	22.8	57.1	651.4	325.7
Mn	57.1	42.8	40.7	30.5
Ni	10	27	500	135
Hg	1.4	1.1	1400	1100
Fe	3.7	3.1	123.3	103.3
Zn	0.28	2.8	0.93	9
Cu	34.2	31.4	85.5	78.5

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

TEOR TOTAL DE FENÓLICOS E FLAVONOIDES, ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E ALELOPÁTICA DOS EXTRATOS DOS FRUTOS VERDES DE *Solanum lycocarpum*

TOTAL PHENOL AND TOTAL FLAVONOID CONTENT, ANTIOXIDANT AND ALLELOPATHIC ACTIVITIES OF EXTRACTS OF THE UNRIPE FRUITS OF *Solanum lycocarpum*

SILVA, Izabela Caputo Assis[1]; FONSECA, Juliana Costa[1]; COIMBRA, Mairon César[1]; DUARTE-ALMEIDA, Joaquim Maurício[1]; LIMA, Luciana Alves Rodrigues dos Santos[1*]

[1]*Campus* Centro-Oeste Dona Lindu, Universidade Federal de São João Del Rei, Rua Sebastião Gonçalves Coelho, 400, Chanadour, 35501-296, Divinópolis, MG, Brazil. (phone: + 55 37 36904497; fax: +55 37 32211614)

*Corresponding author:
E-mail: luarsantos@ufsj.edu.br

Received 20 February 2018; received in revised form 09 April 2018; accepted 11 November 2018

RESUMO

Solanum lycocarpum é conhecida popularmente como lobeira, sendo bastante utilizada na medicina popular. No presente estudo, os extratos hexânico e metanólico obtidos dos frutos verdes de *S. lycocarpum,* por extração em Soxhlet, foram avaliados quanto às atividades antioxidante e alelopática e tiveram determinados os teores de compostos fenólicos e flavonoides. Os extratos apresentaram atividade antioxidante nas sete concentrações testadas. Os valores de CE_{50} obtidos para os extratos puderam ser correlacionados diretamente com a quantidade de compostos fenólicos e flavonoides presentes nas amostras. Para a atividade alelopática, as amostras apresentaram efeitos heterogêneos sobre o crescimento do hipocótilo e da radícula das sementes de cebola e efeitos inibitórios sobre as sementes de alface. Esses resultados incentivam novos estudos com a espécie, no sentido de se isolar e identificar os compostos responsáveis por essas atividades para que, no futuro, possam ser usados como antioxidantes ou aleloquímicos de origem natural.

Palavras-chave: *Solanum lycocarpum*, antioxidante, alelopatia, flavonoides, fenólicos.

ABSTRACT

The species *Solanum lycocarpum* is popularly known as “fruit of the wolf”, and is widely used in traditional medicine. In the present study, the hexane and methanol extracts obtained from the unripe fruits of *S. lycocarpum,* using a Soxhlet extractor, were evaluated for allelopathic and antioxidant activities. In addition, the content of phenolic compounds and flavonoids was determined. The extracts showed antioxidant activity at the seven concentrations tested. The EC_{50} values obtained for the extracts could be correlated directly with the content of the phenolic compounds and flavonoids present in the samples. For the allelopathic activity, the samples showed heterogeneous effects on the growth of the hypocotyl and radicle of onion seeds, as well as inhibitory effects against lettuce seeds. These results encourage further studies of this species in order to isolate and identify the compounds responsible for these activities that, in the future, could be used as antioxidants or allelochemicals of a natural origin.

Keywords: *Solanum lycocarpum*, antioxidant, allelopathic, flavonoids, phenolic.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUCTION

Foods of plant origin, such as teas, herbs, oilseeds, beans, fruits, and vegetables, have been suggested as natural sources for antioxidants (Ara and Nur, 2009). Antioxidants are substances that can delay or inhibit lipid oxidation, acting as free radical scavengers, peroxide decomposers, singlet oxygen quenchers, enzyme inhibitors and synergists. *In vivo*, lipid oxidation may play a role in coronary heart disease, atherosclerosis, cancer, and the aging process (Rufino *et al*., 2011). Vitamins A, C and E, carotenoids, flavonoids and other simple phenolic compounds found in cereals, fruits and vegetables are known to possess antioxidant potential (Arnao *et al*., 2001). This explains why the search for natural antioxidants, especially of plant origin, has greatly increased in recent years (Lima *et al*., 2010).

Allelopathy refers to any process involving secondary metabolites produced by plants, algae, bacteria and fungi, which have positive or negative effects on the growth and development of the natural and agricultural system (IAS, 1996). The development of new bioactive molecules with potential application in pharmacology and agriculture by using natural products, such as templates, has been widely attempted in recent years. The potential of phytochemicals and allelochemicals (natural plant toxins) in agriculture has been the subject of research that has the main purpose of finding phytotoxic substances to use as new herbicidal templates (Macías *et al*., 2008).

The Solanaceae family is comprised of about 3000 species and 150 genera. It is prevalent in tropical and subtropical regions of South America, and has economic importance because several species of the *Solanum* genus are cultivated for food, such as *Solanum tuberosum* (potato), *Solanum lycopersicum* (tomato), *Solanum melongena* (eggplant), and *Solanum gilo* (gilo) (Souza and Lorenzi, 2008). The species *Solanum lycocarpum* A. St. Hil., popularly known as the “fruit of the wolf”, is widely distributed in the Brazilian Cerrado. The fruits are usually consumed ‘*in natura*’ or used in jellies, jams, or pasta preparations (Vieira *et al*., 2003). It is widely used in traditional medicine as a sedative, in the treatment of epilepsy, asthma, diabetes, obesity, high cholesterol levels, and abdominal and renal pains (Munari *et al*., 2012). Phytochemical studies of this species showed that solasonine and solamargine are two predominant steroidal glycoalkaloids that have a common aglycone, solasodine (Miranda *et al*., 2013).

Our group studied this species, reported the presence of caffeic and chlorogenic acids in ripe fruits (Morais *et al*., 2015) and apigenin and kaempferol in the leaves (Costa *et al*., 2015), and also anti-inflammatory, antioxidant, anti-tumour, cytotoxic, genotoxic, antibacterial, allelopathic and larvicidal (Chiavegatto *et al*., 2017; Costa *et al*., 2015; Morais *et al*., 2013, 2015, 2017; Pereira *et al*., 2014; Silva *et al*., 2015). The aim of this present study was to evaluate the total phenolic compounds, flavonoid contents and antioxidant and allelopathic activities of hexane and methanol extracts of the unripe fruits of *Solanum lycocarpum.*

MATERIALS AND METHODS

Chemicals

2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), quercetin, 2-(*N*-morpholino) ethanesulfonic acid (MES), gallic acid, Folin-Ciocalteu reagent and aluminum trichloride were obtained from Sigma (St. Louis, MO, USA). Methanol, hexane, ethanol and dimethylsulfoxide were obtained from Vetec (Duque de Caxias, RJ, Brazil).

Plant material and extraction

The unripe fruits of *S. lycocarpum* A. St. Hil. were collected in São Sebastião do Oeste (20°14'38.96"S, 45°2'14.38"W), Minas Gerais, Brazil, in August 2013. Dr. Alexandre Salino identified the plant material and a voucher specimen (BHCB 159397) was deposited at the Instituto de Ciências Biológicas Herbarium at the Universidade Federal de Minas Gerais in Belo Horizonte, MG, Brazil. As *S. lycocarpum* a Brazilian native genetic material, the present study had been approved by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) through Access and Shipment Component of Genetic Heritage for scientific research purpose (no. 010655/2011-5).

Hexane and methanol were used as solvents to obtain the extracts from 74.62 g of dried and powdered unripe fruits, using a Soxhlet extractor. The extracts were then concentrated in a rotary evaporator at 40 °C under reduced pressure to yield the hexane (HEX, 2.26 g) and methanol (MET, 10.23 g) extracts. The extracts were screened for the presence of different

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

phytoconstituents, such as saponins, tannins, alkaloids, sterols, terpenes, coumarins, and flavonoids (Wagner *et al*., 2001).

Total Phenolic Content (TPC)

The Total Phenolic Content (TPC) was estimated using the Folin-Ciocalteu test in hexane and methanol extract (Zielinski *et al*., 2014), with modifications. The Folin-Ciocalteu aqueous solution (2,250 µL; 1:4 v:v) was added to the standard solution or samples (250 µL) and, subsequently, a sodium carbonate solution (250 µL). After vigorous shaking, these solutions were kept at rest for 30 min at room temperature. The absorbance was determined by spectrophotometry at 750 nm (Thermo Scientific Genesys 10S, USA) after 30 min of incubation at room temperature, with a blank sample, as well as a standard solution and samples. Gallic acid was used as the reference compound and the Total Phenolic Contents were expressed as mg of gallic acid equivalents (GAE)/g of extract. All assays were performed in triplicate.

Total Flavonoid Content (TFC)

The Total Flavonoid Content was estimated according to the Dowd method (Morais *et al*., 2014). Exactly 2 mL of 2% aluminum trichloride ($AlCl_3$) in ethanol was mixed with the same volume of the extract solution (1 mg/mL). The absorbance was read at 415 nm using a spectrophotometer (Thermo Scientific Genesys 10S, USA) after 30 min, with a blank sample consisting of a 2 mL extract solution with 2 mL methanol without $AlCl_3$. Quercetin was used as the reference compound to produce the standard curve, and Total Flavonoid Contents were expressed as mg of quercetin equivalents (QE)/g of extract. All assays were performed in triplicate.

DPPH radical scavenging assay

The radical-scavenging abilities of *S. lycocarpum* extracts were based on reactions with a 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH) and were compared to the standard, 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT). The determination of antioxidant activity using the DPPH method was adapted for use with microplates (Araújo *et al*., 2013). A DPPH solution (0.002% w/v) was prepared in 80% methanol. Exactly 75 µL of the samples or standards (1, 10, 100, 250, 500, 1000 and 2000 µg/mL) were added to the wells in a 96-well flat-bottom plate containing 150 µL of DPPH solution. The plate was then covered and left in the dark at room temperature (25 °C). After 30 min, the absorbance at 517 nm was measured with a spectrophotometer (Biotek Power Wave XS2, USA), and 80% methanol was used for the baseline correction.

Scavenging ability was expressed as the inhibition percentage and was calculated by equation (Burda and Oleszek, 2001):

$$\text{Scavenging ability (\%)} = \frac{(\text{Abs control} - \text{Abs sample})}{\text{Abs control} \times 100} \times 100$$

where $Abs_{control}$ is the absorbance of the DPPH radical in 80% methanol and Abs_{sample} is the absorbance of samples and standards in 80% methanol + DPPH. The antioxidant activity of all of the samples was expressed as IC_{50}, which was defined as a concentration (in µg/mL) of samples required to inhibit the formation of the DPPH radicals by 50%. IC_{50} values were calculated using the Probit analysis (Finney, 1980). All assays were performed in triplicate.

Allelopathic assay

The allelopathic activity of extracts obtained from unripe fruits of *S. lycocarpum* was evaluated through the effects on the growth of lettuce (*Lactuca sativa* cv cabbage, Feltrin, Brazil) and onion (*Allium cepa* cv Red Creole, Topsed Garden, Brazil) seeds. The dried extracts were dissolved in distilled water and their pH values were buffered with 10 mM 2-(*N*-morpholino) ethanesulfonic acid, adjusted to 6.0-6.2 with a NaOH solution. Concentrations lower than 200 µg/mL were obtained by a dilution series. Growth studies were conducted in 100 mm Petri dishes containing a 9.0 cm sheet of Whatman no. 1 filter paper as a support. Then, 25 lettuce or onion seeds were placed in each dish with 7 mL of the test (50, 100 and 200 µg/mL) or control solution (deionized water with MES). All tests were performed in triplicate and were repeated at least once. The dishes were covered with Parafilm to reduce evaporation and were then incubated in the dark at 25 °C in a controlled-environment growth chamber (Fanem 346-MD, Brazil) for seven days. After this time, the lengths of the radicle and hypocotyl were measured. During the measurement process, the dishes were kept at 4 °C to avoid subsequent growth (Freitas *et al*., 2015).

The effects on the growth can be calculated using the following formula (Pinto *et*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

al., 2013):

$$\% \text{ on the growth} = \frac{Ma - Mc}{Mc} \times 100$$

Ma is the mean value of the seeds with samples tested and Mc is the mean value of the control (seeds grown without the addition of samples tested). Thus, zero represents the control, positive values represent stimulation of the studied parameter and negative values represent inhibition. The data were evaluated using Student's *t*-tests. The differences between the experiment and control were significant at a *p*-value < 0.05.

RESULTS AND DISCUSSION

In this work, phytochemical tests revealed the presence of alkaloids, terpenes, sterols and flavonoids in the hexane extract. Alkaloids and flavonoids were present in the methanol extract. In a previous study on the green fruits of *S. lycocarpum*, alkaloids and coumarins were found in the hexane fraction. In addition, flavonoids, tannins and coumarins were found to be present in the methanol extract (Pereira *et al*., 2014).

The 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)-scavenging activity of hexane and methanol extracts obtained from *S. lycocarpum* are presented in Table 1. The extracts and positive control 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT) were capable of scavenging DPPH radicals in a concentration-dependent manner. The samples exhibited more activities compared to the positive control BHT at concentrations of 1 and 10 µg/mL. As can be observed from the IC_{50} values (Table 2), methanol extract was found to be the most potent antioxidant, followed by hexane extract. The extracts were less active than was the BHT. The IC_{50} values determined for the extracts of *S. lycocarpum* on the DPPH radical were statistically significant when compared with BHT (*p*-value < 0.05).

The antioxidant activity of *S. lycocarpum* was previously reported in the literature. Martins *et al*. (2013) recent study investigated the optimization of the extraction condition and the evaluation of the antioxidant activity of the extracts from the *S. lycocarpum* fruits. Their study also demonstrated that the polar solvents (50% ethanol) possessed high levels of antioxidant activity. In a previous study on the ripe fruits of *S. lycocarpum*, the ethanol extracts and fractions exhibited antioxidant activity using the DPPH method, with IC_{50} values estimated to be between 2.96 and 172.00 µg/mL (Morais *et al*., 2015).

The methanol extract had the highest level of total phenolic compounds and flavonoids: 8.797 mg GAE/g of extract and 3.028 mg QE/g of extract, respectively, confirming the screening for the presence of flavonoids. The total phenolic compounds and flavonoids of hexane extract were estimated to be 2.332 mg GAE/g of extract and 0.616 mg QE/g of extract, respectively (Table 2). The IC_{50} values determined for the extracts could be correlated with the total phenolic compounds and flavonoids. A previous study on the ripe fruits of *S. lycocarpum* revealed the presence of phenolic acids, as caffeic and chlorogenic acids (Morais *et al*., 2015).

The allelopathic effects of the hexane and methanol extract from unripe *S. lycocarpum* fruits on the radicle and hypocotyl of *L. sativa* and *A. cepa* were evaluated in three different concentrations, and the results are shown in Figures 1 and 2. The methanol extract stimulated the growth of the *Allium cepa* (onion) radicle at concentrations of 50 and 200 µg/mL, with 48.5% at a concentration of 50 µg/mL. The hexane extract showed inhibitory activity on the growth of the radicle in 41.3% at a concentration of 200 µg/mL. Regarding the growth of the hypocotyl, the methanol extract stimulated growth at the three concentrations tested, with 43.4% at a concentration of 50 µg/mL. The hexane extract inhibited hypocotyl growth in 52.7% at a concentration of 200 µg/mL (Figure 1).

Figure 2 shows the growth of the *Lactuca sativa* (lettuce) radicle and hypocotyl. The hexane and methanol extracts showed inhibitory activities against the radicle and hypocotyl at the three concentrations tested. The best results were the hexane extract inhibitory activity on the growth of the radicle at a concentration of 100 µg/mL and of the hypocotyls at a concentration of 200 µg/mL.

The extract and fractions from ripe *S. lycocarpum* fruits showed allelopathic potential, with inhibition germination of *L. sativa* and *A. cepa* (Morais *et al*., 2013). Phytochemical studies showed the presence of alkaloids in a large number of *Solanum*, including *S. lycocarpum* (Miranda *et al*., 2013). The observed allelopathic effects from the ripe *S. lycocarpum* fruits are probably caused by the alkaloids detected in the hexane and methanol extracts.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

CONCLUSION

The results demonstrated that ripe *Solanum lycocarpum* fruits possessed antioxidant potential. The EC_{50} values obtained for the extracts could be directly correlated with the content of phenolic compounds and flavonoids present in the samples. For allelopathic activity, the samples showed heterogeneous effects on the growth of onion seed hypocotyls and radicles, and inhibitory effects against lettuce seeds. These results encourage further studies of this species in order to isolate and identify the compounds responsible for these activities that in the future, could be used as antioxidants or allelochemicals of a natural origin.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and the Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) for their fellowships, and to Dr. Alexandre Salino for the botanical identification of this plant.

CONFLICT OF INTEREST

The authors do not have any conflicts of interest.

REFERENCES

1. Ara, N., Nur, H. *In vitro* antioxidant activity of methanolic leaves and flowers extracts of *Lippia alba*. *Research Journal of Medicine & Medical Sciences*, **2009**, *4*, 107-110.
2. Rufino, M.S.M., Alves, R.E., Fernandes, F.A.N., Brito, E.S. Free radical scavenging behavior often exotic tropical fruits extracts. *Food Res. Int.*, **2011**, *44*, 2072-2075.
3. Arnao, M.B., Cano, A., Acosta, M. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chem.*, **2001**, *73*, 239-244.
4. Lima, L.A.R.S., Pimenta, L.P.S., Boaventura, M.A.D. Acetogenins from *Annona cornifolia* and their antioxidant capacity. *Food Chem.*, **2010**, *122*, 1129-38.
5. IAS (INTERNATIONAL ALLELOPATHY SOCIETY CONSTITUTION). *First World Congress on Allelopathy. A Science for the Future.* Universidad de Cadiz: Cadiz, **1996**.
6. Macías, F.A., Oliveros-Bastidas, A., Marín, D., Carrera, C., Chinchilla, N., Molinillo, J.M.G. Plant biocommunicators: their phytotoxicity, degradation studies and potential use as herbicide models. *Phytochem. Rev.*, **2008**, *7*, 179-194.
7. Souza, V.C., Lorenzi H.; Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II, Nova Odessa: São Paulo, **2008**, 704p.
8. Vieira, G.Jr., Ferreira, P.M., Matos, L.G., Ferreira, E.C., Rodovalho, W., Ferri, P.H., Ferreira, H.D., Costa, E.A. Anti-inflammatory effect of *Solanum lycocarpum* fruits. *Phytother. Res.*, **2003**, *17*, 892-896.
9. Munari, C.C., Oliveira, P.F., Lima, I.M.S., Martins, S.P.L., Costa, J.C., Bastos, J.K., Tavares, D.C. Evaluation of cytotoxic, genotoxic and antigenotoxic potential of *Solanum lycocarpum* fruits glicoalkaloid extract in V79 cells. *Food Chem. Toxicol.*, **2012**, *50*, 3696-3701.
10. Miranda, M.A., Tiossi, R.F.J., Silva, M.R., Rodrigues, K.C., Kuehn, C.C., Oliveira, L.G.R., Albuquerque, S., McChesney, J.D., Lezama-Davila, C.M., Isaac-Marquez, A.P., Bastos, J.K. *In vitro* leishmanicidal and cytotoxic activities of the glycoalkaloids from *Solanum lycocarpum* (Solanaceae) fruits. *Chem. Biodiver.*, **2013**, *10*, 642-648.
11. Morais, M.G., Costa, G.A.F., Aleixo, A.A., Oliveira, G.T., Alves, L.F., Duarte-Almeida, J.M., Ferreira, J.M.S., Lima, L.A.R.S. Antioxidant, antibacterial and cytotoxic potential of the ripe fruits of *Solanum lycocarpum* A. St. Hil. (Solanaceae). *Nat. Prod. Res.*, **2015**, *29*, 480-483.
12. Costa, G.A.F., Morais, M.G., Saldanha, A.A., Silva, I.C.A., Aleixo, A.A., Ferreira, J.M.S., Soares, A.C., Duarte-Almeida, J.M., Lima, L.A.R.S. Antioxidant, antibacterial, cytotoxic, and anti-inflammatory potential of the leaves of *Solanum lycocarpum* A. St. Hil. (Solanaceae). *Evid. Based Complementary Altern. Med.*, **2015**, *Article ID 315987*.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

13. Chiavegatto, R.B., Chaves, A.L.A., Silva, I.C.A., Lima, L.A.R.S., Techio, V.H. Cytotoxic and genotoxic effects of *Solanum lycocarpum* St. -Hil (Solanaceae) on the cell cycle of *Lactuca sativa* and *Allium cepa. Acta Sci. Biol. Sci.*, **2017**, *39*, 201-210.
14. Morais, M.G., Silva, V.C.B., Oliveira, G.T., Ferreira, J.M.S., Lima, L.A.R.S. Allelopathic potential of the ripe fruits of *Solanum lycocarpum* A. St. Hil. (Solanaceae). *Biochem. Biotechnol. Rep*., **2013**, *2*, 37-41
15. Morais, M.G., Costa, G.A.F., Silva, I.C.A., Silva, A.G., Ribeiro, R.I.M.A., Ferreira, J.M.S., Duarte-Almeida, J.M., Pinto, F.C.H., Lima, L.A.R.S.; Inhibiting the development of solid Ehrlich tumor by extract of the ripe fruits of *Solanum lycocarpum*. In: Collins, H.R. (Ed.); Caffeic Acid, Potential Uses and Health Benefits, Nova Science Publishers Inc.: New York, pp. 83-96, **2017**.
16. Pereira, T.M., Silva, V.C.B., Ribeiro Neto, J.A., Alves, S.N., Lima, L.A.R.S. Larvicidal activity of the methanol extract and fractions of the green fruits of *Solanum lycocarpum* (Solanaceae) against the vector *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Rev. Soc. Bras. Med. Trop*., **2014**, *47*, 646-648.
17. Silva, V.C.B., Ribeiro Neto, J.A., Alves, S.N., Lima, L.A.R.S. Larvicidal activity of the oils, fatty acids, and methyl esters from ripe and unripe fruits of *Solanum lycocarpum* (Solanaceae) against the vector *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Rev. Soc. Bras. Med. Trop*., **2015**, *48*, 610-613.
18. Wagner, H.M., Bladt, S., Zgainski, E.M.; *Plant drug analysis*. Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, **2001**, 384p.
19. Zielinski, A.A.F., Haminiuk, C.W.I., Alberti, A., Nogueira, A., Demiate, I.M., Granato, D. A comparative study of the phenolic compounds and the *in vitro* antioxidant activity of different Brazilian teas using multivariate statistical techniques. *Food Res. Int.*, **2014**, *60*, 246-254.
20. Morais, M.I., Pinto, M.E.A., Araújo, S.G., Castro, A.H.F., Duarte-Almeida, J.M., Rosa, L.H., Rosa, C.A., Johann, S., Lima, L.A.R.S. Antioxidant and antifungal activities of *Smilax campestris* Griseb. (Smilacaceae). *Nat. Prod. Res.*, **2014**, *28*, 1275-1279.
21. Araújo, S.G., Pinto, M.E.A., Silva, N.L., Santos, F.J.L., Castro, A.H.F., Lima, L.A.R.S. Antioxidant and allelopathic activities of extract and fractions from *Rosmarinus officinalis*. *Biochem. Biotechnol. Rep*., **2013**, *2*, 35-43.
22. Burda, S., Oleszek, W. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *J. Agric. Food Chem.*, **2001**, *49*, 2774-2779.
23. Finney, D.J.; *Probit Analysis*, 3ª. ed. Cambridge University Press: Cambridge, **1980**, 333p.
24. Freitas, L.B.O., Boaventura, M.A.D., Santos, W.L., Stehmann, J.R., Junior, D.D., Lopes, M.T.P., Magalhães, T.F.F., Silva, D.L., Resende, M.A. Allelopathic, cytotoxic and antifungic activities of new dihydrophenanthrenes and other constituents of leaves and roots extracts of *Banisteriopsis anisandra* (Malpighiaceae). *Phytochem. Lett.*, **2015**, *12*, 9-16.
25. Pinto, M.E.A., Silva, N.L., Siqueira, E.P., Santos, F.J.L., Lima, L.A.R.S. Allelopathic effect of fatty acid methyl esters from corn and sunflower oils. *Biochem. Biotechnol. Rep*., **2013**, *2*, 44-48.
26. Martins, G.Z., Santos, A.N., Vilela, M.V.R., Ferreira, M.C., Oliveira, W.P., Moreira, R.R.D. Optimization of extraction conditions and antioxidant activity of *Solanum lycocarpum* fruits. *J. Applied Sci.*, **2013**, *13*, 147-153.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 1. *DPPH-scavenging activity of Solanum lycocarpum fruit extracts.*

Samples (µg/mL)	HEX (%)	MET (%)	BHT (%)
1	38.99 ± 0.33*	39.11 ± 0.83*	18.50 ± 0.24
10	40.81 ± 0.76*	39.36 ± 0.15*	25.90 ± 0.64
100	42.99 ± 0.71*	41.85 ± 0.95*	86.00 ± 0.56
250	44.25 ± 0.47*	42.86 ± 0.75*	91.40 ± 0.28
500	45.11 ± 0.47*	44.43 ± 0.69*	94.02 ± 0.64
1000	51.84 ± 0.35*	53.01 ± 0.78*	99.12 ± 0.82
2000	61.66 ± 0.89*	64.17 ± 0.85*	99.99 ± 0.01

HEX: hexane extract; MET: methanol extract; and BHT: 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol. Each value in the table is the mean ± standard deviation (n = 3) of % DPPH-scavenging activity of *Solanum lycocarpum* fruit extracts. $^{*}p < 0.05$ compared with BHT.

Table 2. *IC_{50} values, total phenolic compounds and flavonoids content of Solanum lycocarpum fruit extracts.*

Samples	IC_{50} (µg/mL)	TPC[A]	TFC[B]
HEX	559.86 ± 7.85*	2.332 ± 0.439	0.616 ± 0.011
MET	526.19 ± 6.76*	8.797 ± 0.876	3.028 ± 0.177
BHT	16.36 ± 1.63	-	-

HEX: hexane extract; MET: methanol extract; and BHT: 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol.
IC_{50}: concentration (in µg/mL) of samples required to inhibit the formation of DPPH radicals by 50%.
[A]Total phenolic content: results expressed as mg of gallic acid equivalents/g of extract.
[B]Total flavonoids content: results expressed as mg of quercetin equivalents/g of extract.
Each value in the table is the mean ± standard deviation (n = 3).
$^{*}p < 0.05$ compared with BHT

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

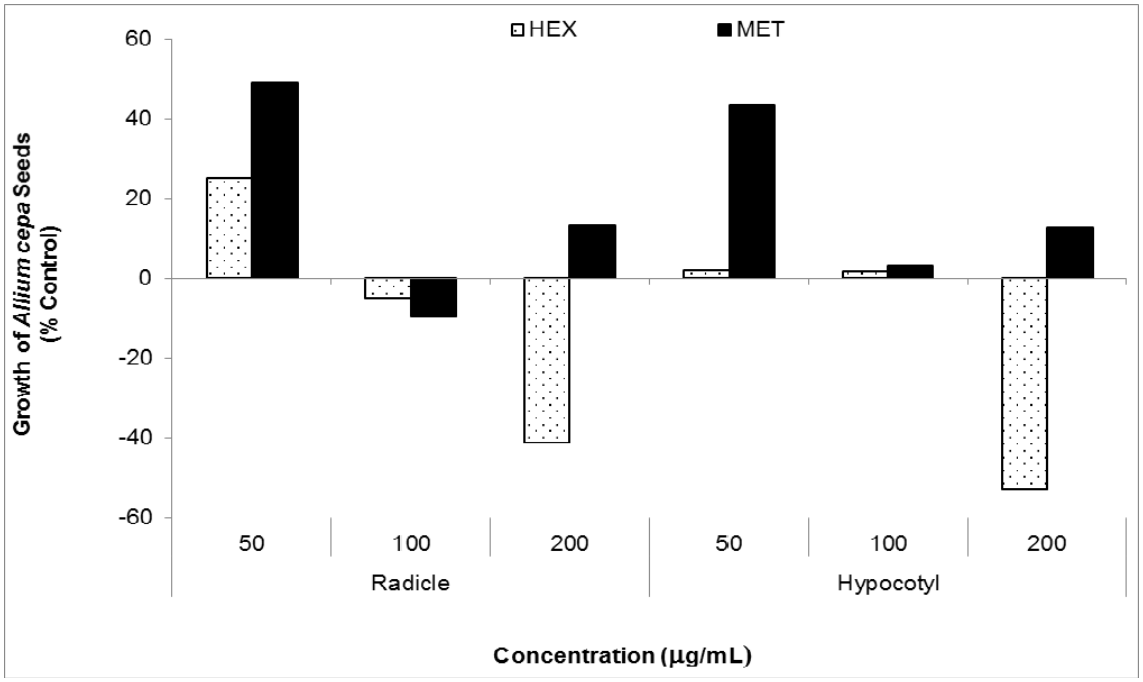


Figure 1. *Growth of Allium cepa (onion) seeds exposed to Solanum lycocarpum fruit extracts at concentrations of 50, 100 and 200 µg/mL.*

HEX: hexane extract; MET: methanol extract. All values are statistically significant ($p < 0.05$) comparing to the control.

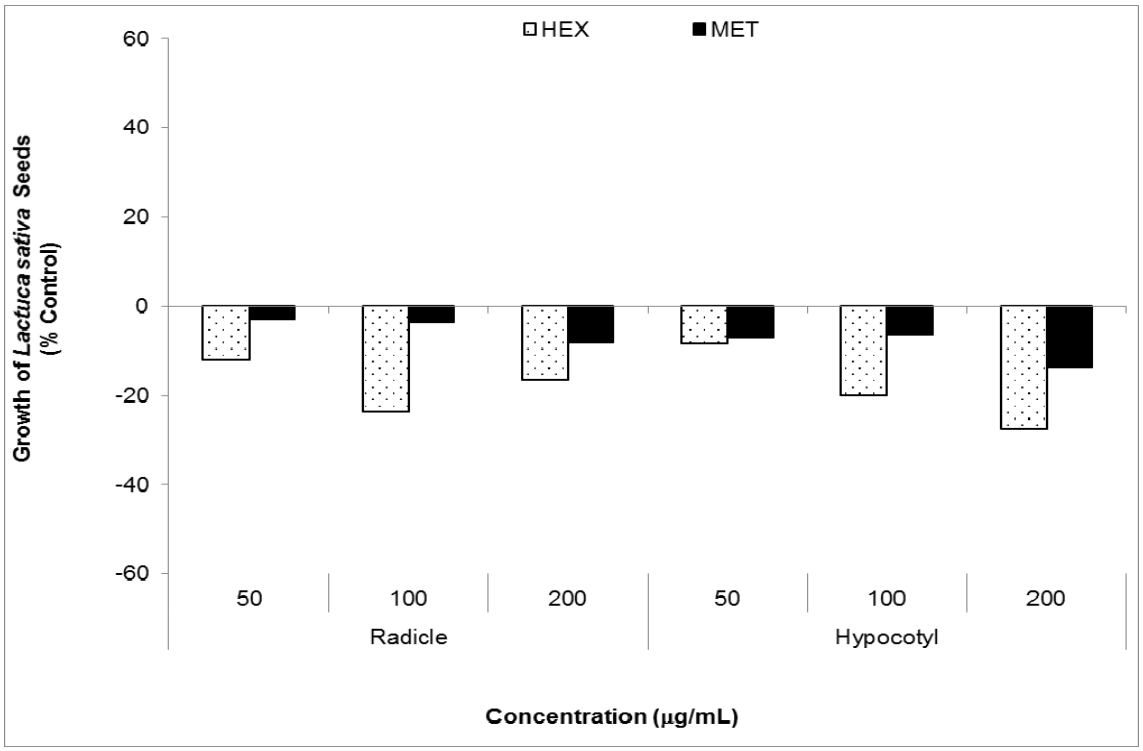


Figure 2. *Growth of Lactuca sativa (lettuce) seeds exposed to the Solanum lycocarpum fruit extracts at concentrations of 50, 100 and 200 µg/mL.*

HEX: hexane extract; MET: methanol extract. All values are statistically significant ($p < 0.05$) comparing to the control.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ESPECTROSCOPIA TEÓRICA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO: UMA ABORDAGEM DIDÁTICA

THEORETICAL SPECTROSCOPY IN THE INFRARED REGION: A DIDACTIC APPROACH

RODRIGUES, Caio Henrique Pinke[1*]; ASSIS, Victor Oliveira[1]; BRUNI, Aline Thaís[1];

[1] Universidade de São Paulo, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Departamento de Química, Av Bandeirantes, 3900, cep 14040-901, Ribeirão Preto – SP, Brasil

** Autor correspondente*
e-mail: caio.pinke.rodrigues@usp.br

Received 17 October 2018; received in revised form 31 October 2018; accepted 5 November 2018

RESUMO

A química é tradicionalmente uma ciência experimental e metodologias de ensino são fundamentais para o entendimento dessa ciência. Entretanto, existe um certo distanciamento dos discentes quanto ao conteúdo teórico quando práticas experimentais são ministradas. Essa abordagem poderia ter inserção tanto em conteúdos ministrados na forma presencial, quanto por meio da modalidade Educação à Distância, enriquecendo as reflexões sobre o ensino de Química. O principal objetivo desse trabalho foi a aplicação de química teórica no estudo de espectroscopia. As técnicas espectroscópicas fazem uso da interação da matéria com a radiação eletromagnética. As vibrações são específicas para cada grupo funcional que compõe uma determinada molécula. Elas são geralmente descritas em salas de aula associando os átomos a esferas e as ligações a molas. No caso desse trabalho foi utilizado o formalismo mecânica quântica com Teoria do Funcional de Densidade para explicar como os espectros podem ser gerados por meio de cálculos teóricos. Os resultados apresentaram uma boa concordância com o que é observado experimentalmente. O procedimento pode alcançar estudantes tanto no ensino presencial quando à distância, oferecendo uma maneira de entendimento de uma técnica experimental por meio de uma abordagem teórica.

Palavras-chave: *Ensino; Química; Química teórica;*

ABSTRACT

Chemistry is traditionally an experimental science and teaching methodologies are fundamental to understand this science. However, the students may be distant from the theoretical content when experimental practices are taught. This approach could be inserted both in content taught in the classroom and through the Distance Education modality, enriching the reflections on teaching of Chemistry. The main objective of this work was the application of theoretical chemistry in the study of spectroscopy. Spectroscopic techniques make use of the interaction of matter with electromagnetic radiation. Vibrations are specific to each functional group that composes a particular molecule. They are usually described in classrooms by associating atoms with spheres and connections with springs. In this work we used quantum mechanical formalism with Density Functional Theory to explain how spectra can be generated by means of theoretical calculations. The results showed a good agreement experimental data. The procedure can reach students both in face-to-face and distance learning, offering a way of understanding an experimental technique through a theoretical approach.

Keywords: *Teaching; Chemistry; Theoretical chemistry;*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

Dentro das grandes áreas do conhecimento, a Química está atualmente inserida nas Ciências da Natureza e suas Tecnologias. Apesar de tradicionalmente ser uma das disciplinas que contemplam as Ciências Exatas, apresenta alto grau de abstração e, muitas vezes, é de difícil compreensão para uma parcela significativa dos estudantes dos mais diversos níveis de escolaridade. Dessa forma, a experimentação é de importância fundamental no ensino de qualquer uma das áreas da Química, pois possibilita ao discente um maior contato e consequentemente uma maior relação entre os conteúdos teóricos e práticos. A experimentação ainda pode tornar as aulas mais dinâmicas e despertar o interesse dos alunos pelo conteúdo ministrado (Pinheiro et al., 2015).

A química é essencialmente baseada em modelos da estrutura atômica. Nesse contexto, experimentos computacionais podem ser muito interessantes para prever o comportamento molecular e propriedades associadas (Bruni and Ferreira, 2008; Bruni et al., 2018; Corrêa et al., 2010; Cramer and Truhlar, 2013; Galembeck and Caramori, 2003; Guido et al., 2010; Rodrigues, 2018; Scotti et al., 2007; SILVA et al., 2016).

De acordo com a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC), "a química computacional é uma disciplina que faz uso de métodos matemáticos para calcular propriedades moleculares ou para simular o comportamento molecular" (Bezerra et al., 2012) e, segundo Silva et al (Silva et al., 2016), "a química computacional é a prova que o tubo de ensaio e o computador são igualmente importantes para o desenvolvimento de química atualmente".

Dessa forma, o emprego da experimentação computacional pode ser feito por meio de *Softwares* Educacionais (SE) ou como Tecnologias da Informação e Comunicação (TICs). Esses podem ser entendidos como recursos de origem digital que auxiliam no processo de aprendizado e que, segundo Santos e Amaral (Batista et al., 2016) podem auxiliar "potencializando e contribuindo de forma significativa nas melhorias da aprendizagem dos alunos".

A utilização de recursos computacionais pode ser vista como uma alternativa e uma ferramenta para explorarmos os conteúdos didático-pedagógicos ministrados em um curso de Química; essa estratégia permite "colocar os alunos em uma posição ativa de descobridores e construtores de seu próprio conhecimento" (Pinheiro et al., 2015). S*oftwares* de simulação têm surgido como uma nova opção no ensino da química e podem ser hábeis em substituir as representações pictóricas, esquemáticas e os modelos estáticos anteriormente utilizados por ferramentas que proporcionam visualização de representações de modelos dinâmicos (Melo and Melo, 2005). Ainda, podem proporcionar condições aos alunos para o desenvolvimento da compreensão conceitual dos estudos sem que haja apenas o uso mecânico dos conceitos que envolvem os fenômenos estudados. Sob essa ótica, podemos entender que a utilização das simulações computacionais pode ser uma das possíveis formas de aprimoramento da compreensão dos discentes sobre diferentes fenômenos químicos (Silva et al., 2016).

A principal motivação deste trabalho foi a observação do distanciamento dos alunos em relação às partes teórica e prática referentes à espectroscopia. A ideia é contribuir para aumentar as interações dos alunos com os conteúdos ministrados presencialmente ou por meio da modalidade EAD (Educação a Distância), no intuito de fornecer possibilidades de ampliação das reflexões do uso das tecnologias no ensino de Química.

Portanto, este trabalho tem como objetivo propor um instrumento didático, utilizando SE para contribuir para a formação dos discentes dos cursos de química, trazendo à luz formas teóricas de previsão de espectros de infravermelho.

MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia proposta para esse estudo foi dividida em quatro etapas: Escolha dos *softwares* e sistema de estudo; Considerações prévias; Cálculo teórico dos espectros; e Elaboração do espectro.

1. Escolha dos *softwares* e sistema de estudo

Para facilitar a reprodução dos ensaios propostos e/ou direcionar os experimentos para conjunto de moléculas de interesse a metodologia foi desenvolvida com base em *softwares* já conhecidos no meio acadêmico.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Para a montagem do arquivo com a linha de comando do cálculo (input), foi utilizado o Avogadro em sua versão 1.1.1 devido à interface simplificada e à livre disponibilização (Hanwell et al., 2012) (disponível em https://avogadro.cc/). Utilizamos o programa ORCA, na versão 4.0.1 (disponível em https://ORCAforum.cec.mpg.de/) para efetuar os cálculos relativos aos espectros. Por último, se fez uso do EXCEL®, fornecido e desenvolvido pela Microsoft Corporation, para análise dos dados gerados no cálculo e plotagem dos espectros de infravermelho. As estruturas do sistema de estudo seguem abaixo (Figura 1)

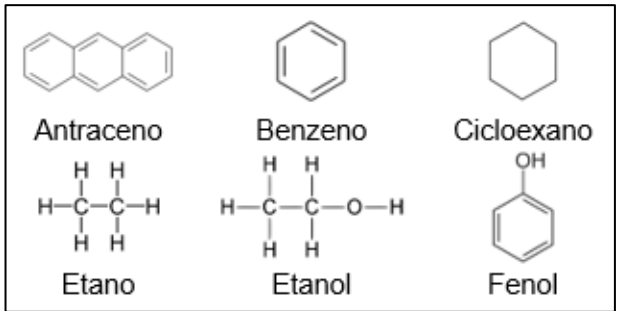


Figura 1. Sistema de estudo

Há uma infinidade de compostos que poderiam ser utilizados para ilustrar a potencialidade dessa abordagem. Entretanto, foram selecionadas moléculas que possuíam características como aromaticidade, ciclicidade, ligações conjugadas, cadeias lineares, além de serem compostos relativamente pequenos, minimizando o custo computacional e demonstrando a validade da técnica independente da complexidade do sistema de análise.

Deve-se levar em consideração, ainda, que os ambientes do computador e do laboratório são diferentes. Nesse caso, optou-se por não levar em consideração a interação com solvente, pois aumentaria o custo computacional. No entanto, o docente que pretende aplicar essas ferramentas pode optar por um estudo mais aprofundado caso haja tempo e interesse nesses aspectos.

2. Considerações prévias

- Otimização de geometria

A otimização de geometria para a grande maioria dos cálculos teóricos é, normalmente, o primeiro passo para a determinação do arranjo espacial dos átomos. Esse passo tem por objetivo encontrar o arranjo atômico relativo à conformação de menor energia para o composto em estudo. Dependendo da flexibilidade da molécula é necessário investigar uma superfície de energia potencial (do inglês *Potential Energy Surface*, PES), a qual relaciona matematicamente diferentes geometrias moleculares e suas energias (Gotwals, 2000). Os valores encontrados de energia geralmente são dispostos em um gráfico bidimensional ou tridimensional para que sejam observados os pontos de mínimos e máximos globais e locais.

- Escolha do método e conjunto das bases de cálculo

Como mencionado anteriormente, neste trabalho foi utilizado DFT para a resolução da equação de Schrödinger (Equação 1).

$$H\psi = E\psi \qquad (1)$$

Dentre as várias possibilidades de métodos disponíveis para uso no ORCA, o funcional B3LYP foi escolhido, pois este método requer um custo computacional relativamente baixo e resultados próximos aos encontrados na literatura. O acrônimo B3LYP (Becke, 1993; Stewart, 2007) combina o funcional de Becke, proposto em 1988, com a correlação funcional de Lee, Yang e Parr enquanto o número 3 indica três parâmetros semiempíricos a serem determinados por um ajuste adequado com os dados experimentais, sendo eles: aproximação da densidade do spin local (do inglês *Local Spin Density Approximation*, LSDA), correção do gradiente de Becke de 1988 (Salahub and Zerner, 1989) (B88) e a correção de gradiente para a correlação de Perdew e Wang de 1991 (PW91) (Ortolan, 2014).

Em seguida é necessário escolher um conjunto de bases para fornecer os orbitais atômicos ideais para o cálculo em questão. Neste trabalho foi escolhido o conjunto de base 6-31G** (Pople, 1967), a qual se trata de uma base de dupla valência de Pople; o núcleo é um CGTO composto de 6 gaussianas e a valência é descrita por dois orbitais, um CGTO de 3 gaussianas e outro composto de apenas uma. Além do mais, essa base conta também com polarização nos orbitais *d* e *p*.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

3. Cálculo teórico dos espectros

- Criação do arquivo de entrada (*input*)

O *software* Avogadro foi escolhido para que as estruturas do sistema de estudo fossem desenhadas. O *input* para o cálculo no *software* ORCA requer uma linha de comando que deve ser fornecida pelo executor. Este input é geralmente gerado por outro programa e não pelo próprio ORCA. Nesse trabalho também utilizamos o Avogadro para a criação desse arquivo de entrada. Esse *input* é composto por duas partes principais: (i) as linhas de comando, que dirão ao *software* o que ele deverá fazer e (ii) as coordenadas dos átomos que compõem a molécula estudada.

A base utilizada foi *6-31G*** e aproximações nas integrais foram feitas com o intuito de acelerar a convergência dos cálculos. Para isso foram empregadas as palavras chave *RIJCOSX* e *DIIS*. No entanto, é necessário que a molécula esteja otimizada e encontre-se no mínimo de energia global para que seja feito o cálculo. Dessa forma, a descrição feita por Foresman e Frisch (Foresman and Frisch, 1996) foi seguida, onde o método matemático geral aplicado é através da primeira derivada da energia, que deve ser zero, caso a estrutura esteja em um mínimo. Esse ponto na superfície de energia potencial, onde as forças são zero é chamado de ponto estacionário. No caso específico dos espectros, foi empregada a palavra-chave *FREQ* para determinar a frequência das vibrações dos átomos ou conjunto de átomos.

Além dessas especificações na linha de comando do *input*, também foi solicitado ao ORCA uma otimização de energia por meio do termo *TightOpt*. Essa palavra chave é utilizada para refinar a otimização e os cálculos de frequências vibracionais harmônicas. A ideia é alcançar o ponto estacionário correspondente e, a partir dele, obter o espectro de infravermelho.

- Cálculos no ORCA

Embora seja disponibilizado de forma gratuita e periodicamente atualizado por grupos de pesquisadores, o *software* ORCA não possui uma interface, sendo necessário iniciá-lo por meio do *prompt* de Comando. No menu “Iniciar”, basta pesquisar por CMD que aparecerá a opção para abrir o *prompt*. Para levar o computador até o programa, é necessário utilizar o comando “cd” (do inglês *change directory*) e indicar qual diretório ele deverá entrar (Figura 2).

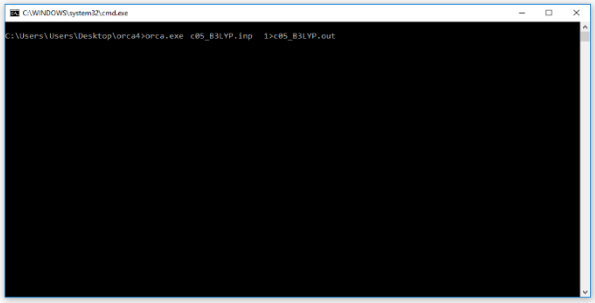


Figura 2. *Prompt* de comando do Windows® mostrando como iniciar o ORCA.

Para reduzir as mudanças de diretório necessárias até o computador encontrar a pasta do ORCA, sugere-se deixá-la na área de trabalho; quanto aos inputs, esses deverão estar dentro da pasta do *software* em questão. Em seguida, basta acessar os diretórios do computador até que esteja dentro da pasta onde o ORCA está instalado (para maiores informações acesse o manual do ORCA em sua versão 4.0 no site https://orcaforum.cec.mpg.de/OrcaManual.pdf).

4. Elaboração do espectro

Caso o cálculo termine sem problemas, o resultado será o arquivo de saída ([NOME PARA O OUTPUT].out) contendo todas as informações solicitadas na linha de comando do arquivo *input*, dentre elas frequências. Para encontrá-las no arquivo de saída, deve-se procurar pelo campo denominado “*VIBRATIONAL FREQUENCIES”*.

Nesse ponto vale a ressalva da possibilidade de haver alguma frequência negativa (denominada pelo ORCA como ****imaginary mode***). Isso indica que o sistema não está no ponto mínimo de energia e, portanto, não se encontra no estado estacionário. Esse fato é especialmente importante, pois as frequências negativas indicam que uma determinada região da molécula não está em uma configuração de mínimo e, por isso, oscila. É possível visualizar qual parte da molécula pertence tal frequência negativa. Embora facilmente encontrado no manual do *software* utilizado, não será abordado nesse artigo. Com

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

todos os pontos até aqui certificados, o próximo item do arquivo de saída é chamado “IR SPECTRUM”. Deve-se copiar para o EXCEL® as colunas “freq (cm**-1)”, que dizem respeito ao número de onda responsável pela vibração bem como a coluna “T**2”, que se refere à intensidade dessa vibração.

Os cálculos teóricos tendem a gerar resultados que são energeticamente superiores aos experimentais devido a uma otimização da geometria imperfeita quando comparada aos sistemas reais. Esse valor contabiliza os efeitos de uma estrutura que não atingiu o mínimo global real e acrescenta os efeitos de anarmonicidade que não foram considerados. Dessa forma, esses dados precisam ser corrigidos (Biczysko et al., 2018; Bruni et al., 2018; Cornaton et al., 2016).

Devido à popularidade do DFT aqui utilizado (Shao et al., 2015), é possível aplicar uma correção linear dos valores obtidos a partir de uma escala pré-calculada pelo Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (do inglês, *National Institute of Standards and Technology*, NIST) (NIST, 2018) para aproximar o resultado calculado da correção tabelado.

Na planilha com os dados foi aplicada a correção fornecida pelo NIST, multiplicando os valores da coluna contendo os números de onda por um fator que depende do método; no nosso caso, esse valor é 0,961 (NIST Standard Reference Database 101, 2016). Quando as vibrações obtidas pelo ORCA são projetadas, obtém-se linhas bem definidas. No entanto, em um espectro real, temos uma distribuição das intensidades pelas frequências. Para contornar esse fato, foi utilizado uma distribuição normal ou gaussiana, como mostrado abaixo na Equação 2 (Caire, 2013), para que os números de onda possam ser contínuos e o espectro possa ser construído de forma ininterrupta.

$$f(x) = \frac{1}{\sqrt{2}} e^{-\frac{-(x^2-\mu)^2}{2\sigma^2}} \qquad (2)$$

No *software* EXCEL®, a função matemática que realiza essa distribuição é a apresentada na Equação 3,

{=SOMA(Bx:By*EXP(-((Fx-Cx:Cy)^2)/2/Ex))} (3)

onde Bx:By é o intervalo com todas as intensidades (T**2 no output gerado pelo ORCA), Cx:Cy é o intervalo correspondente as frequências já corrigidas (*μ*), Fx é o novo conjunto de frequências (*x*) e Ex é a dimensão da gaussiana (*σ*) utilizada. Neste caso foi empregada uma variação de 4 em 4 cm^{-1} de 550 cm^{-1} até 3846 cm^{-1}, pois os valores abaixo de 550 cm^{-1} são característicos do chamado *fingerprint* das moléculas, muito específicos e que requerem estudos mais detalhados (Aboul-Enein et al. 2005; Hillenbrand et al. 2012; Piatkowski et al. 2018). Os valores acima de 3846 cm^{-1} não foram observados nos resultados obtidos e, portanto, não foi necessário expandir o gráfico para além desse valor. A especificação de utilizar frequências de 4 em 4 cm^{-1} foi escolhida para oferecer uma melhor dispersão dos valores. Vale ressaltar que tanto os limites do gráfico quanto a dispersão podem ser ajustados para cada sistema a ser estudado.

A distribuição gaussiana é um artifício estatístico para mostrar como os valores de uma matriz estão distribuídos em um eixo. Dessa forma, é necessário especificar quais são esses valores. Para este caso, indicamos que sejam feitas duas colunas uma com os valores do IR Inten (este obtido diretamente do *output*) e outra com o *Scaled* (valores das vibrações corrigidos). Ambas devem ser identificadas como matrizes. Para isso, no caso do *software* utilizado, basta apertar o conjunto de botões “Alt + Ctrl + Enter” na célula onde a função será empregada. Assim, a equação 3 será interpretada pelo programa como uma matriz e para simbolizar isso, as chaves serão introduzidas no começo e no final da fórmula.

Para a criar o espectro propriamente dito, inicialmente deve-se selecionar as colunas com as novas frequências (Freq) e a coluna com a distribuição gaussiana dos valores. O próximo passo foi ir em “Inserir > Gráficos > Dispersão > Dispersão com Linhas Suaves”. O gráfico, após formatação de acordo com a preferência requerida, será semelhante ao apresentado na Figura 3. Tem-se nesse caso aspecto semelhante ao dos espectros obtidos experimentalmente, exceto pela orientação dos eixos. No caso dos espectros experimentais, os eixos são invertidos. Entretanto, a análise pode ser feita da mesma maneira.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

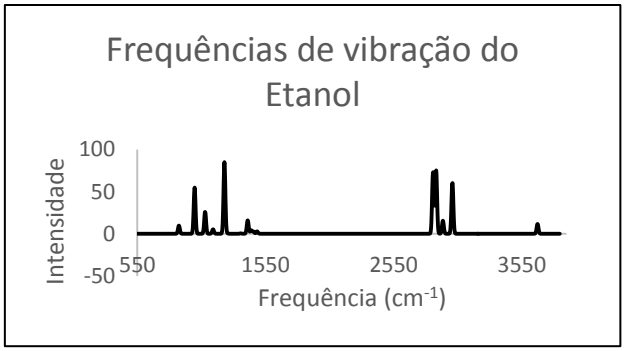


Figura 3. Gráfico gerado no EXCEL para o espectro teórico calculado

Os espectros gerados teoricamente foram comparados com os experimentais que foram retirados do banco de dados do NIST (NIST Standard Reference Database 101, 2016).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A proposta deste estudo é voltada principalmente para a educação e desmistificação dessa técnica, que pode ser pouco intuitiva se for seguido apenas o modelo clássico de equações matemáticas.

A Tabela 1 abriga os espectros obtidos pelo método proposto e os obtidos experimentalmente em bancos de dados na literatura específica.

A partir da justaposição dos espectros teóricos e seus respectivos análogos experimentais, foi possível notar a semelhança no perfil da curva dos picos. No etanol, por exemplo, foi possível notar picos de alta intensidade na região de 1000 cm^{-1}, 1400 cm^{-1} e 3000 cm^{-1} em ambos os casos. Em todos os outros foi observada a mesma tendência de relação, o que valida o método computacional como uma ferramenta na predição dos espectros experimentais. Não são observadas as grandes bandas na região de 3000 cm^{-1} até 3600 cm^{-1} provenientes da interação com o solvente ou das ligações de hidrogênio das hidroxilas.

As frequências vibracionais calculadas nos experimentos também podem ser visualizadas no Avogadro, de forma a elucidar as distorções que a molécula sofre sob determinada frequência. Para essa visualização, é necessário abrir o arquivo de output no *software* selecionar uma intensidade e depois o "*Start Animation*". Como resultado, houve a animação que ilustra a vibração.

Essa funcionalidade permite com que os alunos consigam observar o que é um estiramento simétrico (Figura 4 – A e B), antissimétrico, "tesoura", quando é no mesmo plano ou fora do plano, dentre outras observações que podem ser guiadas pelo professor.

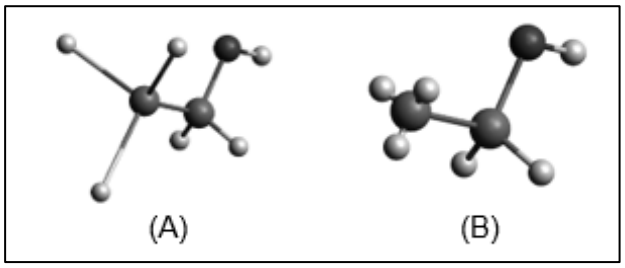


Figura 4. Estiramento simétrico observado na região de 3000cm^{-1} da molécula de etanol

Na Figura 3 foi utilizada uma amplitude do movimento para mostrar de forma clara a vibração que é observada na animação por meio da funcionalidade de visualização do *software*.

O método proposto pode seguir duas vertentes de análise e finalidades. A primeira pode ser utilizada na fronteira das pesquisas científicas, como no caso da convecção de espectros de moléculas ainda desconhecidas, como por exemplo as novas drogas sintéticas (Feng et al., 2017; Rodrigues et al., 2013; Skultety et al., 2017), auxiliando na identificação precoce dessas substâncias. A segunda pode ser destinada a aproximar os conteúdos teóricos dos experimentais dos discentes de diferentes semestres dos cursos de química, farmácia, engenharias e outros correlatos, mostrando de forma mais ativa qual grupo funcional originou aquela frequência, qual a forma do estiramento proporcionado por ela e diversas outras discussões que podem advir dos resultados. Esse procedimento ajuda a aproximar os conteúdos abordados em livros da área e também pode auxiliar os alunos a entender melhor porque uma determinada frequência está associada a um estiramento. Essa abordagem vai além da simples abstração de qual seria essa forma e onde ela estaria no espectro (Bezerra et al., 2012).

Como a abordagem e profundidade do conteúdo depende de quem ministra a aula, pode ser utilizado o mesmo conceito para diferentes profundidades de estudo. Outro ponto que merece destaque é a possibilidade dos discentes da modalidade EAD terem o contato com a técnica, mesmo à distância. Ainda vale

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ressaltar que todos os *softwares* utilizados nos cálculos deste artigo são gratuitos, exceto o Excel® que acompanha todos os computadores com sistema operacional Windows®, colaborando com a acessibilidade do emprego do método proposto a praticamente qualquer realidade, desde que haja um computador hábil a execução dos programas.

CONCLUSÕES

A necessidade dos discentes em compreender como que todas as segmentações de um curso se comunicam é de extrema importância. A formação de um profissional multidisciplinar, ou seja, aquele que consegue integrar as diversas disciplinas com facilidade e destreza é uma das características mais requeridas no mercado. Para alcançar essas particularidades da formação, podemos empregar métodos teóricos como uma ferramenta de aprofundamento do conhecimento.

O uso de novas tecnologias é de extrema importância e muito pertinente na sociedade atual, sendo que as possíveis aplicações podem ter reflexos muito benéficos na área educacional. Diversos recursos estão cada vez mais sendo inseridos e utilizados no exercício do ensino-aprendizagem como um instrumento que pode subsidiar e auxiliar o referido processo.

Sob a ótica da química, a visualização experimental da interação da matéria com radiação é raramente trabalhada de forma direta. Devido a esse fato, pode haver uma certa dificuldade aos estudantes de compreender como ocorre o processo de obtenção dos valores de um espectro de infravermelho. É nesse contexto que essa proposta de método a ser aplicado em aula tornou-se pertinente.

Somando a esses fatos, o aprendizado é mais efetivo quando utilizamos uma abordagem baseada em informações sensoriais, tornando-a um mecanismo de aprendizado interessante. Dessa forma, a proposta de material didático utilizando métodos teóricos pode facilitar o entendimento dos movimentos atômicos e moleculares ligados ao espectro no infravermelho.

A busca por meios para a facilitação e a compreensão de conceitos de Química por parte dos alunos tem sido um dos principais objetivos dos pesquisadores em Ensino durante as últimas décadas. A utilização de recursos provenientes de ferramentas decorrentes de tecnologias como os SE estão cada vez mais inseridos na área de ensino. Esse movimento tem o desígnio de melhorar a qualidade do aprendizado e do ensino, para que haja um maior aproveitamento tanto por parte dos discente, mas também oferecer mais ferramentas pedagógicas para o docente.

A proposta desse estudo mostrou resultados teóricos obtidos por meio de softwares podem ter boa correlação com os de origem experimental.

Em linhas gerais, este estudo tem potencial para ser empregado como instrumento didático, tanto na educação presencial, quanto no sistema de EAD. Além disso, também poder auxiliar no entendimento teórico da espectroscopia, mais especificamente da espectroscopia no infravermelho.

REFERÊNCIAS

1. Aboul-Enein, H. Y., Zou, H., Yang, G., Qin, Z., Jiang, W., Du, A. Profress in Quality Control of Herbal Medicine with IR Fingerprint Spectra. *Analytical Letters,* **2005**,1457-1475.

2. Batista, G. da C., Lima, A.R., Crisóstomo, L.C. da S., Marinho, M.M., Marinho, E.S. Softwares para o ensino de química: CHEMSKETCH® um poderoso recurso didático. *Rev. Educ. Interdiscip.* **2016**, 5, 1–9.

3. Becke, A.D., Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *J. Chem. Phys*. **1993**, 98, 5648.

4. Bezerra, A.F., Lopes, K.C., Araújo, R.C.M.U. Utilização da química computacional como ferramenta de auxílio no aprendizado dos conteúdos do ensino médio. *XVI Encontro Nac. Ensino Química (XVI ENEQ) e X Encontro Educ. Química da Bahia (X EDUQUI),* **2012.**

5. Biczysko, M., Bloino, J., Puzzarini, C. Computational challenges in Astrochemistry. Wiley Interdiscip. *Rev. Comput. Mol. Sci*. **2018**, 8, e1349.

6. Bruni, A.T., Ferreira, M.M.C. Theoretical study of omeprazole behavior: Racemization barrier and decomposition reaction. *Int. J. Quantum Chem*. **2008**, 108, 1097–1106.

• ISSN 1806-0374 (impresso) • ISSN 1806-9827 (CD-ROM) • ISSN 2179-0302 (meio eletrônico)

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

7. Bruni, A.T., de Carvalho, P.O.M., Rodrigues, C.H.P., Leite, V.B.P. In silico methods in forensic science: Quantum chemistry and multivariate analysis applied to infrared spectra of new amphetamine- and cathinone-derived psychoactive substances. *Forensic Chem*. **2018**, 9, 21–34.

8. Caire, E. A história da origem da curva normal. UNESP, **2013**.

9. Cornaton, Y., Ringholm, M., Louant, O., Ruud, K. Analytic calculations of anharmonic infrared and Raman vibrational spectra. *Chem. Phys*, **2016**, 18, 4201–4215.

10. Corrêa, P.C., Oliveira, G.H.H., Botelho, F.M., Goneli, A.L.D., Carvalho, F.M. Modelagem matemática e determinação das propriedades termodinâmicas do café (*Coffea arabica L.*) durante o processo de secagem. *Rev. Ceres*, **2010** 57, 595–601.

11. Cramer, C., Truhlar, D.G. Theoretical chemistry accounts: new century issue. Springer Science & Business Media, **2013**.

12. Feng, L.-Y., Battulga, A., Han, E., Chung, H., Li, J.-H. New psychoactive substances of natural origin: A brief review. *J. Food Drug Anal.*, **2017** 25, 461–471.

13. Foresman, J.B., Frisch, Ae. Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods, Second Edi. ed, Gaussian, Inc. Pittsburgh. PA. **1996**.

14. Galembeck, S.E., Caramori, G.F. Qual o sítio de reação? Um experimento computacional. *Quim. Nova*, **2003**, 26, 957–959.

15. Guido, R.V.C., Andricopulo, A.D., Oliva, G. Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. *Estud. Avançados*, **2010**, 24, 81–98.

16. Hanwell, M.D., Curtis, D.E., Lonie, D.C., Vandermeerschd, T., Zurek, E., Hutchison, G.R., 2012. Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *J. Cheminform.*, **2012**, 4, 1–17.

17. Hillenbrand, R., Huth, F., Govyadinov, A., Amarie, S., Nuansing, W., Keilmann, F. Nano-FTIR Absorption Spectroscopy of Molecular Fingerprints at 20nm Spatial Resolution. *NanoLetters,* **2012**, 3973-3978.

18. Melo, E.S. do N., Melo, J.R.F. de. Softwares de simulação no ensino de química: uma representação social na prática docente. *ETD - Educ. Temática Digit.*, **2005**, 7 6, 57–63.

19. NIST. CCCBDB listing of precalculated vibrational scaling factors. **2018**.

20. NIST Standard Reference Database 101, 2016. Computational Chemistry Comparison and Benchmark DataBase, Release 18 [WWW Document]. Natl. Inst. Stand. Technol.

21. Ortolan, A.O. Apostila de práticas de química computacional, **2014**.

22. Piatkowski, T., Wilsenack, F., Lorenzen, A., Brygo, F., Awanzino, C., Gutty, F., Grisard, A., Larat, C., Papilion, D., Schwarz, M., Lallier, E., Tholl, H. D., Münzhuber, F., Kunz, J., Raab, M., Rattunde, M., Hugger, S., Kastek, M. First results of a QCL-OPA based standoff system, for detecting hazardous substances in the IR-fingerprint domain. *Proc. SPIE 10629, Chemical, Biological, Radiological, Nuclear, and Explosives (CBRNE),* **2018**, 10629-1 – 10629-12.

23. Pinheiro, A.F., Araújo, M.D. de, Pessoa Júnior, E.S.F. Software de simulação: um recurso facilitador no processo de ensino e aprendizagem de química *NO. XII Congr. Nac. Educ,* **2015**, 2042–2057.

24. Pople, J.A. Approximate Self-Consistent Molecular-Orbital Theory. V. Intermediate Neglect of Differential Overlap. *J. Chem. Phys.*, **1967**, 47, 2026.

25. Rodrigues, C.H.P. Dissertação de mestrado. Estudos in silico do comportamento de catinonas sintéticas com interesse forense. Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, **2018**.

26. Rodrigues, N.V.S., Cardoso, E.M., Andrade, M.V.O., Donnici, C.L., Sena, M.M. Analysis of seized cocaine samples by using chemometric methods and FTIR spectroscopy. *J. Braz. Chem. Soc.*, **2013**, 24, 507–517.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

27. Salahub, D.R., Zerner, M.C. The Challenge of d and f Electrons: Theory and Computation, Electrons ACS Symposium Series. *American Chemical Society*, **1989,** Toronto.

28. Scotti, L., Scotti, M.T., Cardoso, C., Pauletti, P., Castro-Gamboa, I., Bolzani, V. da S., Velasco, M.V.R., Menezes, C.M. de S., Ferreira, E.I. Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético. *Rev. Bras. Ciências Farm.*, **2007**, 43, 153–166.

29. Shao, Y., Gan, Z., Epifanovsky, E., Gilbert, A.T.B., Wormit, M., Kussmann, J., Lange, A.W., Behn, A. Advances in molecular quantum chemistry contained in the Q-Chem 4 program package. *Journal of Molecular Physics*, **2015**.

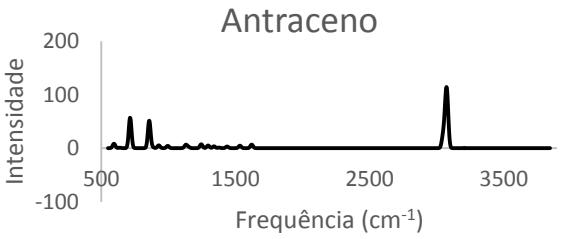
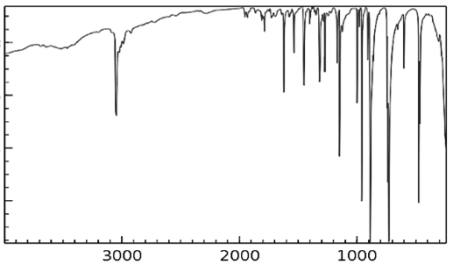
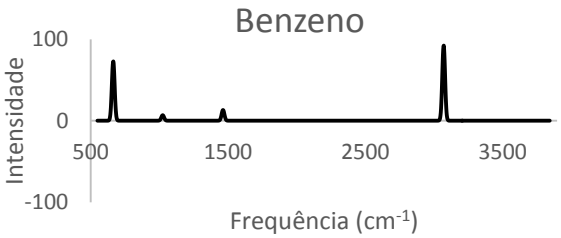
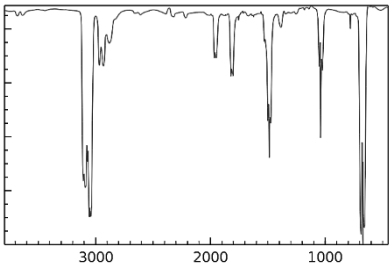
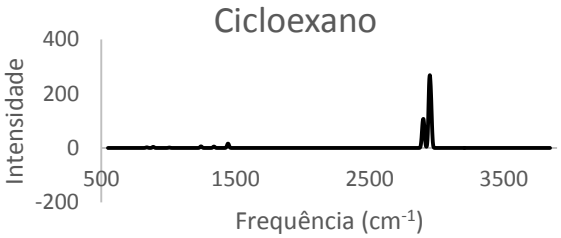
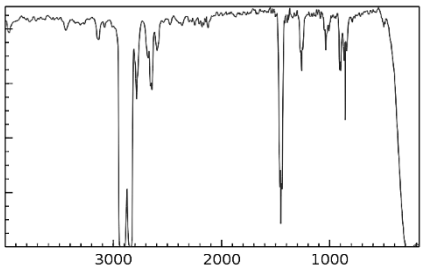
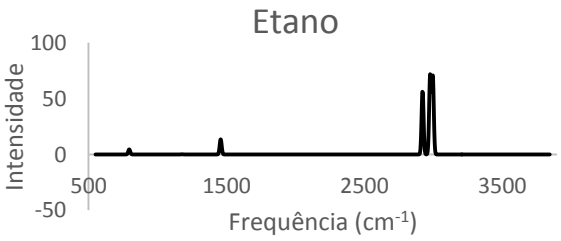
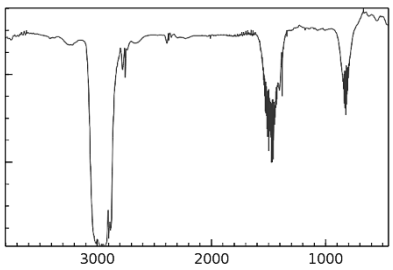
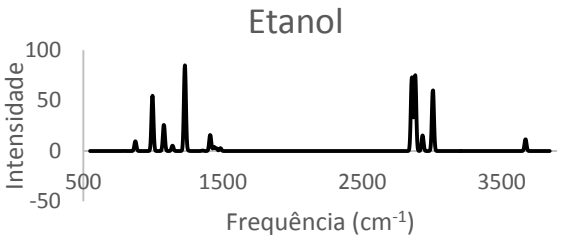
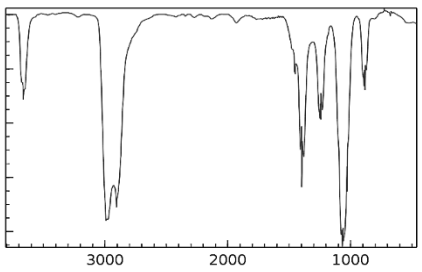
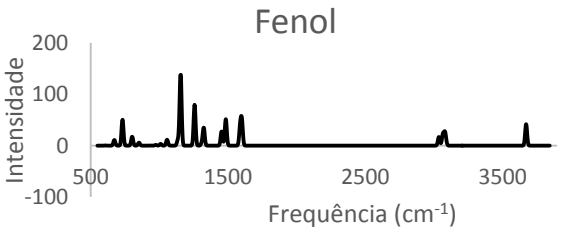
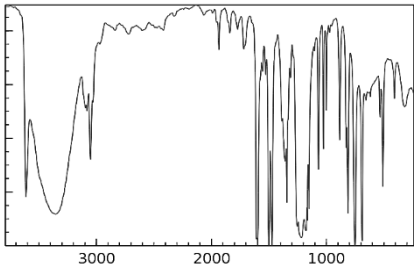
30. Silva, G.N. da, Filho, F.F.D., Andrade, R.B. de. Ensino de química e química computacional: teoria do estado de transição. *Rev. Tecnol. na Educ.*, **2016**, 17, 1–11.

31. Skultety, L., Frycak, P., Qiu, C., Smuts, J., Shear-Laude, L., Lemr, K., Mao, J.X., Kroll, P., Schug, K.A., Szewczak, A., Vaught, C., Lurie, I., Havlicek, V. Resolution of isomeric new designer stimulants using gas chromatography – Vacuum ultraviolet spectroscopy and theoretical computations. *Anal. Chim. Acta.*, **2017,** 971, 55–67.

32. Stewart, J.J.P. Optimization of parameters for semiempirical methods V: modification of NDDO approximations and application to 70 elements. *J. Mol. Model.*, **2007**, 13, 1173–213.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 1. Comparação entre os espectros teóricos e experimentais

TEÓRICO	EXPERIMENTAL
	
	
	
	
	
	

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

APLICAÇÃO DE GEOPROCESSAMENTO NA IDENTIFICAÇÃO DE ÁREAS PARA IMPLANTAÇÃO DE ATERRO SANITÁRIO NO MUNICÍPIO DE POMBAL - PB

APPLICATION OF GEOPROCESSMENT IN THE IDENTIFICATION OF AREAS FOR IMPLANTATION OF SANITARY LANDING IN THE MUNICIPALITY OF POMBAL – PB

ALMEIDA, Simone Nóbrega Ribeiro[1 *]; MACHADO, Érica Cristine Medeiros[2]; SILVA, Michel Almeida da[3]; NOÉ, Jussamara Rodrigues [4]; ALMEIDA, Ricardo Ricelli Pereira de[5]

[1,2,3,5] Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar – CCTA, Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Sistemas Agroindustriais – PPGSA, Rua Jario Vieira Feitosa, nº 1770, Bairro dos Pereiros, CEP 58.840-000, Pombal - PB, Brasil.
(Fone (83) 3431-4000 - Ramal: 4094)

[4] Faculdades Integradas de Patos - FIP, Instituto de Química, Departamento de Físico-Química, Rua São Sepé, 8902, cep 23456-009, Patos - PB, Brasil
(fone: +55 85 2444 4356; fax: +55 85 2321 4030 - Ramal: 4094)

** Autor correspondente*
e-mail: simonenobrega2@gmail.com

Received 29 June 2018; received in revised form 31 October 2018; accepted 5 November 2018

RESUMO

A disposição inadequada de resíduos sólidos é um dos sérios problemas enfrentados pela sociedade moderna. Uma alternativa para esta disposição de forma ambientalmente adequada são os aterros sanitários. Desta forma, o município de Pombal - PB juntamente com outros municípios circunvizinhos buscam a implantação de um aterro sanitário consorciado tendo em vista o atendimento à legislação em vigor. Objetivou-se, portanto, realizar um estudo para identificar, por meio de geoprocessamento, áreas aptas para a implantação de um aterro sanitário no município de Pombal - PB, observando critérios ambientais, sociais e econômicos. Foi estimado o tamanho da área necessária à implantação do aterro. Posteriormente, foram avaliadas três áreas, seguindo critérios preestabelecidos e atribuição de nota. Quanto ao tratamento de dados espaciais utilizou-se o Qgis 2.18. Com isso, selecionou-se preliminarmente a Área 1 como possível área para implantação do aterro sanitário, haja vista ter sido a que melhor atendeu aos critérios estabelecidos.

Palavras-chave: *Sistemas de Informações Geográficas, Resíduos Sólidos, Qgis.*

ABSTRACT

The inadequate disposal of solid waste is one of the serious problems faced by modern society. An alternative to this provision in an environmentally appropriate manner is landfills. In this way, the municipality of Pombal - PB together with other surrounding municipalities, seek the implementation of a consortium sanitary landfill in order to comply with current legislation. The objective of this study was to identify, through geoprocessing, suitable areas for the implantation of a sanitary landfill in the city of Pombal - PB, observing environmental, social and economic criteria. The size of the land required for the landfill was estimated. Subsequently, three areas were evaluated, following pre-established criteria and note assignment. As for spatial data processing, Qgis 2.18 was used. With this, it was preliminarily selected Area 1 as a possible area for landfill implantation, since it was the one that best met the established criteria.

Keywords: Geographic Information System, Solid Waste, Qgis.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

A temática resíduos sólidos vêm sendo discutida em todo o mundo nas últimas décadas, especialmente no que diz respeito à sua disposição final, pois, tem se tornado uma questão bastante desafiadora para a sociedade moderna, tendo em vista o aumento considerável na sua geração, bem como em virtude das diferentes características desses resíduos (SANTOS e CÂNDIDO, 2015; ANDREOLI, 2014; JACOBI e BESEN, 2011).

Tal aumento está associado a diversos fatores dentre eles, podem-se destacar o crescimento populacional em ritmo acelerado, o aumento do consumo, aliado ao novo padrão de consumo e descarte, além das facilidades de mercado para aquisição de produtos (MILARÉ, 2013).

A questão referente aos resíduos sólidos no Brasil foi oficialmente implantada por meio da Lei 12.305 em 02 de agosto de 2010, na qual instituiu a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), sendo posteriormente regulamentada em 23 de dezembro do mesmo ano pelo Decreto 7.404 (MMA, 2011; EL-DEIR, 2014).

Estes dois dispositivos legais institucionalizaram os princípios, objetivos, instrumentos e diretrizes para a gestão dos resíduos sólidos no país, sejam estes orgânicos e inorgânicos, urbanos e rurais, comerciais e industriais, de construção civil, de saúde, agrossilvopastoris, transportes, mineração, limpeza urbana, saneamento básico, resíduos perigosos dentre outros (ANTUNES, 2011).

Os resíduos sólidos urbanos são considerados agentes causadores de sérios problemas ambientais, tendo em vista que a maioria dos municípios não estão preparados e projetados para um crescimento populacional acelerado, bem como para a geração em massa de resíduos sólidos e consequentemente o seu gerenciamento adequado (BORTOLATTO e AHLERT, 2012).

No Brasil, a ineficiência na gestão e principalmente na disposição dos resíduos sólidos, bem como a carência de políticas públicas para sanar as questões deste setor, tem suscitado potenciais problemas de natureza ambiental e econômica (SILVA *et al*, 2012).

A gestão e a disposição final inadequada dos resíduos sólidos acarretam inúmeros impactos ambientais negativos, quais sejam: degradação do solo, poluição/contaminação dos corpos hídricos, intensificação de enchentes, poluição do ar e proliferação de micro e macro vetores de doenças, bem como catação em condições insalubres nas ruas e em áreas de disposição final (BESEN *et al*., 2011; RIBEIRO, 2011).

É indispensável que os resíduos sólidos tenham uma disposição final ambientalmente adequada, e neste contexto uma das soluções mais adequadas é a implantação de um aterro sanitário (MMA, 2012). No entanto se faz necessário à seleção apropriada da área que se deseja implantar o referido aterro, e aliado a isso devem ser realizados diversos estudos, observando os critérios técnicos, ambientais e econômicos (FRIGO, 2013).

Atualmente, inúmeras são as tecnologias que auxiliam no processo de seleção de áreas aptas à implantação de aterros sanitários, dentre elas pode-se destacar o geoprocessamento, que por sua vez é uma importante ferramenta capaz de coletar, tratar, manipular e apresentar dados georreferenciados, por meio de técnicas de Sensoriamento Remoto (SR), Sistemas de Informações Geográficas (SIG) e Sistema de Posicionamento Global (GPS), tais tecnologias são bastante utilizadas em diversas áreas do conhecimento, dentre elas projetos ambientais (FERREIRA, 2006).

Partindo destes pressupostos, este trabalho se justifica pela necessidade da identificação de locais ambientalmente adequados para disposição final de resíduos sólidos, tendo em vista minimizar os efeitos negativos do inadequado gerenciamento citados anteriormente, atendimento a legislação ambiental vigente, bem como contribuição para o desenvolvimento econômico, ambiental e social.

Objetivou-se com este trabalho realizar um estudo técnico-científico, para identificar áreas aptas para a implantação de um aterro sanitário no município de Pombal - PB, observando critérios ambientais e econômicos.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Classificação da Pesquisa

A pesquisa apresenta um caráter descritivo e exploratório, haja vista que envolve levantamentos bibliográficos e documentais, conforme classificação de Gil (2010).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

No tocante a abordagem da pesquisa, teve caráter quanti-qualitativo, visto que, considera o objeto das ciências sociais como um processo complexo, contraditório, inacabado e em constante transformação. O procedimento técnico utilizado é do tipo estudo de caso.

2.2. Caracterização da Área de Estudo

O município de Pombal - PB está situado na região Nordeste do Brasil, na mesorregião do sertão e microrregião de Sousa, no estado da Paraíba (CPRM, 2005), distanciada cerca de 370 km da capital João Pessoa (Figura 1). Possui uma extensão territorial de 888,807 km², encontra-se a 184 metros, e com coordenadas geográficas de 06° 46' 08'' S e 37° 47' 45'' W (IBGE, 2010; CPRM, 2005).

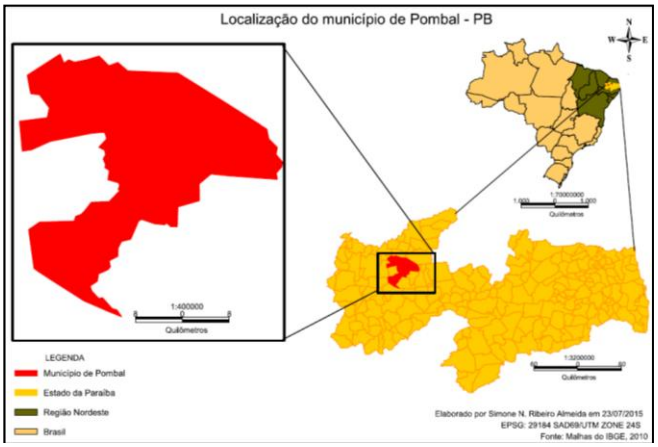


Figura 1. *Mapa de localização do município de Pombal-PB*
Fonte*:* Adaptado de Silva (2017).

Faz parte do bioma caatinga, cuja sua vegetação é basicamente composta por Caatinga Hiperxelófila com trechos de floresta Caducifólia.

O relevo do município apresenta-se de quatro formas distintas e cada um deles apresenta um tipo de solo: Patamares compridos e baixas vertentes do relevo suave ondulado (solo do tipo Planossolos), Topos e altas vertentes (Brunos não cálcicos), Topos e altas vertentes do relevo ondulado (solo do tipo Podzólicos drenados), e Elevações residuais (Litólicos) (CPRM, 2005).

Cabe ressaltar que o município é banhado por dois rios principais: o rio Piancó, que pertence a Sub-bacia/ região hidrográfica do rio Piancó, e o rio Piranhas inserido nas regiões hidrográficas. Alto Curso do rio Piranhas e Médio Curso do rio Piranhas. Sendo inserido, em âmbito nacional, na Bacia Hidrográfica Piancó - Piranhas - Açu. Além disso, há a presença de aquíferos no município e segundo a CPRM (2005) existem 100 pontos de água subterrânea.

Sua população estimada em 2010 foi de 32.110 habitantes e densidade demográfica de 36,13 habitantes/km², com maior concentração populacional na zona urbana (IBGE, 2010).

No que tange os serviços de saneamento básico, a cidade de Pombal - PB dispõe de sistema de abastecimento de água, sistema de esgotamento sanitário, em fase de implantação, além de sistema de drenagem de águas pluviais e o serviço de limpeza urbana e manejo de resíduos sólidos.

Estima-se que 100% da população urbana do município é atendida pelo serviço de coleta regular, mas, todos os resíduos coletados são dispostos no lixão, o qual localiza-se na saída para o município de Sousa-PB, nas proximidades da BR 230. Com o crescimento da urbanização o lixão encontra-se cada vez mais próximo de núcleos populacionais (distância inferior a 1.000 metros) e os resíduos mais próximos da BR 230.

Para tanto, o município tem proposição de construir um aterro sanitário consorciado por meio de consórcio intermunicipal para disposição conjunta dos rejeitos de forma ambientalmente adequada. Para tal, pode-se tomar por base a divisão proposta pelo Plano Estadual de Resíduos Sólidos da Paraíba - PERS-PB (2014), em região geoadministrativa, sendo composto por nove municípios.

O PERS-PB (2014), traz dados acerca da produção diária dos resíduos domiciliares e os resíduos de limpeza pública (Tabela 1) para todos os municípios do estado, também traz a seleção dos municípios que compõem a região geoadministrativa de Pombal.

2.3. Seleção da área para implantação do aterro sanitário

Na seleção de áreas para instalação de aterro sanitário se faz necessário o estudo e o levantamento de distintos dados, dentre os quais dados de previsão populacional, a geração *per capita*, a área necessária para implantação do aterro, além de estudos ambientais.

2.3.1 Projeção populacional e geração per capita

Para a previsão populacional foi utilizado

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

o método Geométrico, o qual considera que o crescimento populacional obedece uma relação matemática do tipo geométrica. Desta forma, para a estimativa da população num ano "n" qualquer, é necessário conhecer a taxa de crescimento geométrico (g) da população entre dois pontos conhecidos $P_0(t_0)$, $P_1(t_1)$. Para estimar a taxa de crescimento e a população para cada um dos municípios consorciados, utilizou-se as equações 1 e 2.

$$g = \left(\sqrt[\Delta t]{\frac{P_1}{P_0}}\right) - 1 \qquad \text{(Eq. 1)}$$

$$P_n = P_1 \times (1 + g)^{\Delta t} \qquad \text{(Eq. 2)}$$

A previsão populacional foi para 20 (vinte) anos o que corresponde ao tempo previsto para vida útil do aterro, esta foi projetada a partir do método do Geométrico, tomando por base as estimativas do IBGE para os anos de 2013, 2014 e 2015.

2.3.2 Geração per capita e massa dos resíduos

Na seleção de áreas para implantação de aterro sanitário, são necessários a obtenção de alguns dados como a geração de resíduos e o volume do aterro. A metodologia para estimar tais parâmetros foi baseada em RECESA (2008), Monteiro *et al*. (2001) e Noé (2013).

A estimativa da quantidade de resíduos gerada durante o período determinado foi baseada no crescimento populacional, na geração per capita e no índice de coleta de resíduos sólidos. Sendo a geração per capita baseada em Monteiro *et al*. (2001), adotada em 0,5 kg/hab.dia para municípios com até 30 mil habitantes e a interpolação da faixa de 0,5 a 0,8 kg/hab.dia para municípios entre 30 mil e 500 mil habitantes. O Quadro 1 mostra a faixa de variação da geração per capita referente ao tamanho da população

Desta forma, considerou-se a previsão populacional e a geração per capita para os vinte anos (tempo previsto para vida útil do aterro), considerando 80% para o índice da cobertura da coleta dos resíduos do município de Pombal-PB, adaptada da metodologia de Noé (2013), a qual utilizou 80,2%, sendo, desta forma, adotado o índice de 80% para os seis primeiros anos e de 100% para os demais anos do horizonte do projeto. Segundo a autora a adoção do índice de 80,2% remete ao fato do município de Pombal-PB promover coleta apenas na zona urbana, sendo mantida para os demais municípios consorciados, tendo em vista que também não realizam coleta regular de resíduos na zona rural.

Cabe ressaltar que no município de Pombal os resíduos sólidos provenientes dos serviços de saúde são coletados e dispostos por uma empresa especializada e não se misturam com os demais, conforme informou a prefeitura, o mesmo foi considerado para os demais municípios.

A estimativa da massa de resíduo foi baseada em Monteiro *et. al.* (2001) e RECESA (2008), por meio da equação 3.

$$M_r = P \times G_p \times c \qquad \text{(Eq. 3)}$$

2.3.3 Volume dos resíduos e área necessária para implantação do aterro sanitário

Para estimar o volume de resíduos, deve-se conhecer o peso especifico de compactação. Sendo adotado o grau de compactação ou redução da massa do resíduo/rejeito de 800 kg/m³, haja vista que se considera que haverá compactação mecânica dos resíduos. De posse destes dados, foi estimado o volume de resíduo produzido diariamente e anualmente, o volume acumulado para o período previsto e o volume total (volume total dos resíduos compactados) (RECESA, 2008), que equivale ao volume acumulado acrescido de 20%(material de cobertura das células).

Com relação a área do confinamento dos resíduos, somou-se o volume acumulado total para os vinte anos de cada município, e dividiu pela altura média padrão das células do aterro sanitário, adotada em 3 metros, como estimado por Monteiro *et al.* (2001).

No tocante a estimativa do tamanho da área para implantação do aterro, considerou-se a área de confinamento dos resíduos, acrescido de 30%, que corresponde à área de infraestrutura ou operacional do aterro, conforme Marques (2011).

2.3.4 Critérios para seleção de áreas aptas a implantação de aterro sanitário

A definição de áreas com potencial para implantação do aterro sanitário foi realizada por meio de levantamento de referências bibliografias relacionadas ao tema e ferramentas de geoprocessamento.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

2.3.4.1 Geoprocessamento

O geoprocessamento foi utilizado na construção de mapas temáticos como recurso principal na busca de uma área propensa à implantação do aterro. Para tal finalidade buscou-se dados junto à Agência Executiva de Gestão das Águas do Estado da Paraíba (AESA), Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais (CPRM), Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE), e GeoPortal do Exército Brasileiro. Os dados levantados foram nos formatos vetoriais e raster, e correspondem, respectivamente a: Curvas de nível; Delimitação do município; Solo; Hidrografia; Mancha urbana; Uso e ocupação do solo; Rodovias; e Vegetação.

Posteriormente, estes dados foram processados e compilados por meio de procedimentos de vetorização e de definição de áreas de influência (*buffer*), além de conversão raster/vetor, no qual se fez uso do *software* livre de geoprocessamento QGIS 2.18 Palmas. Para padronizar os dados numa mesma projeção, foi adotado o Sistema de Referência Geocêntrico para as Américas 2000 (SIRGAS 2000).

2.3.4.2 Critérios para seleção de áreas

Foram selecionadas três áreas preestabelecidas, escolhidas aleatoriamente em extremidades distintas, observando as saídas do município. E avaliadas quanto aos critérios técnicos, legais, ambientais e socioeconômicos tomando por base Monteiro *et al.* (2001), RECESA (2008) e NBR n° 13.896/1997, a fim de selecionar a área mais apta à implantação do aterro sanitário, conforme descrito no Quadro 2.

Para analisar e escolher a área mais apta para instalação do aterro sanitário foi considerado o grau de prioridades dos critérios estabelecidos, além de considerar sua relevância, embasado em Monteiro *et al.* (2001).

Por sua vez, o atendimento aos critérios selecionados e a prioridade se deu por meio da ponderação de pesos/notas atribuídos a estes, conforme apresentado no Quadro 3.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Estimativa do tamanho da área para implantação do aterro sanitário

Para dimensionar a área necessária para implantação do aterro sanitário fez-se necessário pesquisar e estimar alguns dados, como: projeção populacional; volume acumulado; volume total; área do confinamento dos resíduos; material de cobertura; altura média de cada célula e infraestrutura do aterro.

A partir do levantamento da estimativa de crescimento populacional nos anos de 2013, 2014 e 2015 realizadas pelo IBGE, pode-se estimar a população dos nove municípios que fazem parte da região geoadministrativa de Pombal, referente ao horizonte de planejamento do aterro sanitário (2016 - 2035), conforme pode ser observado no Figura 2.

Por meio da estimativa de crescimento populacional foi possível avaliar um indicativo da geração de resíduos sólidos em cada um dos 9 municípios que compõem a região geoadministrativa de Pombal.

A geração total de resíduos em 20 anos corresponderá a 743,60 toneladas para os 9 municípios consorciados. Na Tabela 2 é possível observar a quantidade de resíduos produzidos para o horizonte de planejamento do aterro sanitário, bem como o volume acumulado referente a cada município consorciado.

Cabe ressaltar que tal geração considera todo o resíduo gerado nos municípios sem nenhum programa de intervenção, como reciclagem e/ou compostagem.

Os nove municípios juntos, para o período de 20 anos, geram um volume acumulado total, estimado em 313.937m³.

Para estimar o volume total, acrescentou-se ao volume acumulado 20% de solo, referente ao material necessário para recobrimento dos resíduos, o que equivale a um volume total de 376.724m³ de resíduos.

Partindo deste pressuposto, a área de confinamento dos resíduos é de 125.575m², sendo acrescidos 30% à área encontrada para implantação da infraestrutura de operação do aterro sanitário, conforme utilizada por Marques (2011) totalizando uma área total passível de atender aos nove municípios de 163.247m² ou aproximadamente 16,3 hectares.

A partir de então, foram selecionadas três áreas possíveis de implantação do aterro sanitário, as quais passaram por análises

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

obedecendo aos critérios preestabelecidos na metodologia.

3.2. Critérios para seleção de áreas

Todas as áreas estudadas possuem a mesma extensão territorial, 16,3 hectares e situam-se na zona rural do município de Pombal - PB.

3.2.1 Localização das áreas estudadas

A área 1 apresenta coordenadas geográficas de 6°44'18.95"S e 37°45'18.58"O, com altitude de 201 metros em relação ao nível do mar, nas proximidades da BR 427, sentido Pombal - PB a Serra Negra – RN.

A segunda área situa-se nas proximidades da BR 230, sentido Pombal - PB a Sousa - PB e da PB 325, sentido Pombal - PB a Catolé do Rocha- PB, com coordenadas geográficas de 6°42'44.56"S e 37°48'49.35"O.

A área 3 possui coordenadas geográficas de 6°48'57.03"Se 37°46'26.34"O, nas proximidades da BR 230, sentido Pombal - PB a São Bentinho – PB.

3.2.2 Critérios avaliados em cada área

3.2.2.1 Proximidade a cursos d'água relevantes

A área selecionada para implantação do aterro sanitário deve estar a uma distância mínima de 200 metros de corpos hídricos relevantes, com intuito de evitar a contaminação dos recursos hídricos localizados no entorno da área. A distância hidrográfica foi delimitada aplicando a ferramenta buffer do Qgis, para delimitar uma área de influência de 200 metros.

- ***Área 1***

A Figura 3 ilustra a hidrografia do município e a distância da área 1 que encontra-se ampliada no lado direito do mapa.

Como pode se observar, esta área é cercada pela hidrografia, mas atende ao critério de 200 metros de distância preestabelecido. Contudo, é importante ter cautela no uso desta área para evitar possíveis danos ambientais.

- ***Área 2***

Por meio da Figura 4 é possível observar a hidrografia do município e a distância da área 2, esta que encontra-se ampliada no lado direito do mapa.

Por meio do mapa acima pode se observar que da Área 2 é cortada ao meio pela hidrografia, o que implica no não atendimento ao critério preestabelecido.

- ***Área 3***

A Área 3 está situada a menos de 200 metros de cursos d'água, não atendendo, portanto ao requisito de distância mínima de 200 metros, conforme pode ser observado na Figura 5 (ampliada no lado direito do mapa).

3.2.2.2 Distância de rodovias

A distância de rodovias é um parâmetro que visa dirimir os impactos ambientais como ruídos, odor, impacto visual do aterro, ao mesmo tempo busca uma distância razoável que possa diminuir custos de transporte dos resíduos. A RECESA (2008) estabelece que a área do aterro sanitário deva estar distanciada de rodovias no mínimo a 100 metros. Para tanto, neste estudo não foram analisadas as estradas vicinais.

Para garantir o atendimento deste critério foi aplicado o buffer de 100 metros para as rodovias que cortam o município.

- ***Área 1***

A restrição deste critério foi atendida, pois a área 1 está distanciada da rodovia mais próxima (BR 427), cerca de 462 metros em linha reta, conforme pode ser observado na Figura 6.

- ***Área 2***

A Área 2 situa-se numa região entre duas rodovias, ao norte com a PB 325 e a oeste com a BR 230, conforme pode ser observado na Figura 7.

A restrição deste critério foi atendida, pois a Área 2 está distanciada da rodovia mais próxima (BR 230), cerca de 201 metros em linha reta e da PB 325 aproximadamente 1.546 metros, também em linha reta.

- ***Área 3***

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

A BR 230 que é a rodovia mais próxima da Área 3, conforme pode ser observado na Figura 8.

A restrição deste critério foi atendida, tendo em vista que a Área 3 está distanciada da rodovia mais próxima (BR 230) aproximadamente 204 metros em linha reta.

3.2.2.3 Proximidade a núcleos residenciais urbanos

As recomendações da NBR 13.896 (ABNT, 1997), cujos aterros sanitários devem se localizar a mais de 500 metros dos núcleos populacionais, deve-se ao fato da rejeição da população em residirem próximo a um aterro, além de outros agravantes como possíveis odores, ruídos, poeira, etc.

Para a delimitação da distância dos núcleos populacionais urbanos às áreas avaliadas, foi aplicada a ferramenta buffer do *Qgis* de 500 metros.

- ***Área 1***

A distância da Área 1 em relação aos núcleos populacionais é de aproximadamente 3.275 metros, atendendo, portanto, as recomendações impostas, cujos aterros sanitários devem se localizar a mais de 500 metros dos núcleos populacionais. Por meio da Figura 9 é possível visualizar a distância da Área 1 dos núcleos populacionais urbanos.

- ***Área 2***

A Área 2 está distanciada de núcleos residenciais urbanos, aproximadamente 4.601 metros, atendendo portanto, as recomendações da NBR n° 13.896/1997, cujos aterros sanitários devem se localizar no mínimo 500 metros dos núcleos residenciais. Esta recomendação deve-se ao fato da rejeição por parte da população em residirem próximo a um aterro, além de outros agravantes como possíveis odores, ruídos, poeira, etc. A Figura 10 mostra a distância da Área 2 dos núcleos residenciais urbanos mais próximos.

- ***Área 3***

Esta área se distancia de núcleos residenciais urbanos, aproximadamente 3.228 metros, logo atende as recomendações da NBR n° 13.896/1997, cujos aterros sanitários devem se localizar no mínimo 500 metros dos núcleos residenciais. Por meio da Figura 11, é possível visualizar a distância da Área 3 dos núcleos residenciais urbanos.

3.2.2.4 Permeabilidade natural do solo

A permeabilidade natural do solo é um aspecto muito importante, haja vista que a depender da permeabilidade, pode evitar possível contaminação do lençol freático. Monteiro *et al.* (2001) recomenda que a área para implantação do aterro sanitário, deve apresentar características argilosa e não podendo ser arenosa.

- ***Áreas 1, 2 e 3***

Como recomendado o solo da área para implantação do aterro sanitário, deve ser argiloso, tendo em vista sua característica de impermeabilidade. A Figura 12 mostra a predominância de solo no município de Pombal referente às três áreas selecionadas.

O solo da Área 1 é do tipo Luvissolo Crômico Órtico que caracteriza-se como sendo solo com argila de Média/argilosa, pouco profundo, e ainda pode apresentar pedregosidade na parte superficial e caráter sódico na parte subsuperficial.

Portanto, a Área 1 atende ao critério em questão, estando apta à implantação do aterro sanitário quanto ao requisito permeabilidade natural do solo.

As Áreas 2 e 3 também apresentam solo do tipo Luvissolo Crômico Órtico, desta forma, as duas áreas estão aptas à implantação do aterro sanitário, pois atende ao requisito permeabilidade natural do solo.

3.2.2.5 Uso do solo

A área selecionada deve ser fora de Unidade de Conservação Ambiental, mas pode localizar-se numa região onde há uso rural ou industrial.

- ***Áreas 1, 2 e 3***

A Figura 13 mostra as proporções de uso e ocupação do solo no município de Pombal – PB e a localização das Áreas 1, 2 e 3.

Partindo deste pressuposto, as Áreas 1, 2 e 3 se enquadram nestes requisitos e podem ser consideradas aptas para instalar um aterro

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

sanitário, pois estão fora de Unidade de Conservação Ambiental e localizam-se na área rural.

As Áreas 1, 2 e 3 apresentam usos distintos, como uso em sistemas agroflorestais e outros usos; pastagens e lavouras; e matas e/ou florestas naturais respectivamente. Nas Áreas 1 e 2 há predominância da vegetação do tipo de Savana Estépica Arborizada, já na terceira área de pastagem.

No que tange a vegetação é importante fazer uma análise, mais aprofundada para conhecer as espécies, e especialmente saber quais espécies estão ameaçadas de extinção.

3.2.2.6 Declividade

A declividade representa a inclinação do terreno, é considerado um parâmetro importante em qualquer projeto, na implantação de aterro sanitário não é diferente, por meio deste é possível definir o tipo de aterro sanitário a ser instalado. Áreas com grandes declives são propensas à erosão do solo, mas contribui com o aumento do escoamento superficial das águas, além da percolação do chorume.

- ***Áreas 1, 2 e 3***

A Área 1 apresenta pequeno declive, pois situa-se numa região sem acentuada variação de nível. Isso se justifica pelo afastamento das curvas de nível, haja vista que, quanto mais afastadas, menor é a declividade, logo, menos íngreme é o terreno.

Segundo a RECESA (2008) o método mais indicado para a construção do aterro é o método da área/superfície. A Figura 14 mostra as curvas de nível do município de Pombal - PB e da região onde a Área 1 está inserida.

Embora, a Área 2 e 3 estejam em localidades diferentes da Área 1, apresentam características similares, pois situa-se numa região com pouca variação de nível. Partindo deste pressuposto, as três áreas atendem ao referido critério sendo, portanto, adotado o método construtivo (área/superfície) das Áreas para o aterro.

3.2.2.7 Custo de investimento em construção e infraestrutura

É importante que a área para se instalar um aterro sanitário deva possui infraestrutura completa para reduzir os gastos de investimento. Nas áreas 1,2 e 3 não possui nenhuma infraestrutura, logo o custo de investimento nas três áreas serão semelhantes, pois nenhuma possui infraestrutura alguma.

3.2.2.8 Custo com manutenção do sistema de drenagem

Como as áreas quase não apresentam variação de nível, os gastos com a manutenção do sistema de drenagem tendem a ser baixos, e considerando que as chances de ocorrência de erosão nesta área são poucas (o que não descarta essa possibilidade), este critério é, portanto, atendido parcialmente.

3.2.2.9 Distância de núcleos urbanos de baixa renda

É recomendável que o aterro sanitário esteja distanciado de núcleos urbanos de baixa renda para evitar que algumas pessoas busquem a catação de resíduos. As três áreas não terão este problema, pois estão distanciadas das áreas urbanas, aproximadamente quatro mil metros, atendendo, portanto, a este critério.

3.2.2.10 Vida útil mínima do aterro

O grande desafio de encontrar áreas aptas para a implantação de aterro sanitário é uma das principais razões para a recomendação da NBR 13.896 (ABNT, 1997), em que a construção de aterro possua vida útil mínima de 10 anos. Para atendimento deste critério adotou-se neste estudo, uma vida útil de 20 anos para o aterro.

Com intuito de prolongar a vida útil do aterro sanitário buscou-se realizar a inserção de programas de intervenção de reciclagem e/ou compostagem.

Para isso, considerado o volume acumulado de 313.937 m^3. E para estimar o volume total, acrescentou-se 20% do material necessário para recobrimento dos resíduos, o que equivale a aproximadamente 376.724m^3 de resíduos.

Partindo deste pressuposto, a área de confinamento dos resíduos é de 125.575 m^2, sendo acrescidos 30% à área encontrada para implantação da infraestrutura de operação do aterro sanitário, conforme utilizada por Marques (2011) totalizando uma área passível de atender

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

aos nove municípios de 163.247 m² ou aproximadamente 16,3 hectares.

Os programas de intervenção de reciclagem e/ou compostagem são fundamentais para garantir/prolongar a vida útil do aterro sanitário, que por sua vez, devem ser adotados para nove municípios consorciados. Segundo CEMPRE (2012), os resíduos sólidos urbanos no Brasil totalizam 86%, sendo 35% recicláveis e 51% é matéria orgânica.

Assim sendo, considerou-se os programas de reciclagem e de compostagem, com intuito de manter e até prolongar a vida útil do aterro. Para tal utilizou-se a metodologia baseada em Noé (2013) e os dados da CEMPRE (2012), adotando a implantação do programa de reciclagem (retirado 35% da massa de resíduo total) num primeiro cenário, e dos programas de reciclagem e compostagem (retirado 86% da massa de resíduo total), num segundo cenário, como pode ser observado na Tabela 3.

Tabela 3. *Geração de resíduos para o período de 20 anos*

Programas	**Volume acumulado (m³)**	**Área necessária**	
		(m²)	(ha)
Sem	313.937	125.575	16,3
Reciclagem	244.871	81.624	8,2
Reciclagem e compostagem	52.741	17.580	1,8

Fonte: Adaptado de Noé (2013).

Como observado na tabela 4, é notória a redução no volume acumulado e na área total de implantação do aterro. Sendo assim, o primeiro cenário, mesmo sem considerar programas de intervenção atende ao horizonte de planejamento (20 anos), e com a inserção de programas pode prolongar a vida útil do aterro.

3.2.2.11 Legislação Municipal

Recomenda-se que o município disponha de legislação que oriente e auxilie na questão dos resíduos sólidos, especialmente sua disposição ambientalmente adequada.

O Município de Pombal-PB apresenta legislação que dispõe sobre o uso e ocupação do solo, bem como a questão do parcelamento do solo, estes, dispostos na Lei n° 598 de 21 de junho de 1985 a qual institui o Código de Urbanismo, integrado ao Plano de Desenvolvimento Urbano de Pombal-PB. A referida lei define as diretrizes para o uso e ocupação do solo urbano, assegurando o interesse público e a função social da propriedade no uso da terra no território urbano municipal, além de apresentar importantes interações com o parcelamento e a preservação ambiental.

O Plano Diretor do Município de Pombal, por meio da Lei n° 1287, de 10 de outubro de 2006, assim como o Código Ambiental do Município, sob a Lei de nº 1.599, de 19 de dezembro de 2013, corroboram com as leis anteriormente citadas e aborda sucintamente a questão dos resíduos sólidos.

3.2.3 Ponderação das áreas frente aos critérios

Avaliou-se as três áreas de acordo com os critérios estabelecidos, e definiu-se o atendimento para cada área, conforme pode ser observado no Quadro 4.

Após avaliar o atendimento aos critérios em cada área, foram aplicados os pesos às áreas selecionadas para auxiliar na escolha da melhor área. A pontuação das áreas pode ser visualizada por meio do Quadro 5.

De acordo com a ponderação das áreas obtida no quadro acima, notou-se que estas apresentaram características similares, no entanto, observa-se que a Área 1 se sobressai tendo em vista que atende, mesmo que de forma parcial, ao critério de maior prioridade que é o de proximidade a cursos d'água

CONCLUSÃO

É indispensável uma gestão adequada dos resíduos sólidos, em atendimento a legislação vigente, e para evitar/mitigar a deterioração da qualidade ambiental, de modo a garantir sua conservação.

A disposição final dos resíduos sólidos em aterro sanitário, está longe de ser a solução ideal, contudo, ainda é a opção mais viável para a maioria dos municípios brasileiros, que dispõem seus resíduos inadequadamente em lixões.

Desta forma, a utilização de ferramentas disponíveis no geoprocessamento para a análise e pesquisa de áreas propensas à implantação de aterros sanitários é formidável, haja vista a complexidade para a seleção de áreas para esta finalidade, pois requer diversos estudos técnicos, financeiros e ambientais.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Assim, é possível afirmar, de forma preliminar e após a realização de algumas manobras de engenharia, que a Área 1 é mais indicada para implantação do aterro sanitário dentre as três áreas avaliadas. Tal conclusão foi evidenciada por meio da análise dos critérios predefinidos, mesmo não atendendo totalmente todos os critérios.

A área 1, mesmo sendo considerada a mais apta frente às demais, é indispensável estudos geológicos e geotécnicos mais detalhados, além de análise de custos e viabilidade econômica para implantação do aterro.

O SIG Qgis demonstrou ser uma importante ferramenta na seleção de prováveis áreas para instalação do aterro sanitário, auxiliando na análise de critérios o que possibilitou a seleção preliminar da Área 1.

REFERÊNCIAS:

1. ANDREOLI I, C. V. et al. Resíduos sólidos: origem, classificação e soluções para destinação final adequada. Coleção Agrinho, p. 531-552, [**2014**?]. Disponível em: <http://www.agrinho.com.br/site/wpcontent/uploads/2014/09/32_Residuos-solidos.pdf>. Acesso em: 26 jul. 2016.
2. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT. NBR. 13.896/1997. Aterros de resíduos não perigosos - Critérios para projeto, implantação e operação. Rio de Janeiro, **1997**.
3. ANTUNES, P. B. Direito Ambiental. 12ª Edição. Ed. Lumen Juris. São Paulo, **2011**.
4. BESEN, G. R. & et al. Resíduos sólidos: vulnerabilidades e perspectivas. In: SALDIVA P. *et al.* Meio ambiente e saúde: o desafio das metrópoles. São Paulo: ExLibris, **2011**.
5. BORTOLATTO, G. R.; Ahlert, S. Geotecnologias para a escolha de um local para possível construção de um aterro sanitário em Bento Gonçalves, RS. 3º Congresso Internacional de Tecnologias para o Meio Ambiente. Bento Gonçalves – RS, **2012**.
6. BRASIL. Presidência da República. Lei Nº 12.305, de 02 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 02 de agosto de **2010**.
7. _____. Decreto nº 7.404, de 23 de dezembro de 2010. Regulamenta a Lei no 12.305, de 2 de agosto de **2010**, que institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos, cria o Comitê Interministerial da Política Nacional de Resíduos Sólidos e o Comitê Orientador para a Implantação dos Sistemas de Logística Reversa, e dá outras providências. Brasília, DF, **2010**. Disponível em: <https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2010/decreto/d7404.htm>. Acesso em: 28 de jul. 2016.
8. PARAIBA. Plano Estadual de Habitação de Interesse Social do Estado da Paraíba - PEHIS - PB, **2014.**
9. POMBAL. Lei n° 598 de 21 de junho de **1985**. Institui o Código de Urbanismo, integrado ao Plano de Desenvolvimento Urbano de Pombal, suas normas ordenadas e disciplinadoras, e dá outras providências.
10. _____. Lei n° 1287, de 10 de outubro de **2006**. Define o Plano Diretor de Desenvolvimento Integrado do Município de Pombal, Estado da Paraíba e dá Outras Providências.
11. _____. Lei Nº 1.599, de 19 de dezembro de **2013**. Institui o Código Ambiental do Município de Pombal - PB e dá Outras Providências.
12. PROSAB. Resíduos sólidos urbanos: aterro sustentável para municípios de pequeno porte. Projeto PROSAB. Rio de Janeiro, **2003**.
13. COMPANHIA DE PESQUISA DE RECURSOS MINERAIS. CPRM. Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea: Diagnóstico do município de Pombal, estado da Paraíba. Recife: CPRM/PRODEEM, **2005**.
14. EL-DEIR, S. G. Resíduos sólidos: perspectivas e desafios para a gestão integrada. 1. ed. Recife: EDUFRPE, **2014**. Disponível em: < https://www.passeidireto.com/arquivo/19003088/e-book-residuos-solidos-2014> Acesso em: 26 jul. 2016.
15. FERREIRA, L. C. Produção mais limpa no

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

plano de gerenciamento de resíduos sólidos em empresas de reparação de veículos. **2009**. 87 fl. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção, Gestão Industrial) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Ponta Grossa – MG, 2009.

16. GIL, A. C. Como elaborar projetos de pesquisa. 5. ed. São Paulo: Atlas **2010**.
17. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Cidades. **2010**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindowes.htm>. Acesso em: 15 de jun. 2016.
18. JACOBI, P. R.; BESEN, G. R. **2011**. Gestão de resíduos sólidos em São Paulo: desafios da sustentabilidade. Estudos avançados [online]. v.25, n.71, pp. 135-158. Disponível em: <http://www.revistas.usp.br/eav/article/view/10603/12345>. Acesso em: 28 de jul. 2016.
19. MARQUES, M. D. Seleção de área para implantação de aterro sanitário simplificado: Estudo de caso para o município de Guapó – GO. **2011**. 63 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia do Meio Ambiente) – Universidade Federal de Goiás. Goiana – GO, 2011.
20. MILARÉ, E. Direito Ambiental. 8 ed. São Paulo: Revista dos Tribunais, **2013**.
21. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE – MMA. Plano Nacional de Resíduos Sólidos – Versão Preliminar. **2011**. Disponível em:< http://www.mma.gov.br/estruturas/253/_publicacao/253_publicacao02022012041757.pdf>. Acesso em: 28 de jul. 2016.
22. _____. Plano Nacional de Resíduos Sólidos. **2012**. Disponível em:< http://sinir.gov.br/images/sinir/Arquivos_diversos_do_portal/PNRS_Revisao_Decreto_280812.pdf>. Acesso em: 28 de jul. 2016.
23. MONTEIRO, J. H. P. *et al.* Manual de Gerenciamento Integrado de Resíduos Sólidos. Elaborado pelo IBAM - Instituto Brasileiro de Administração Municipal. Rio de Janeiro, **2001**.
24. NOÈ, J. R. Avaliação da área do lixão para instalação de aterro sanitário consorciado no município de Pombal - PB utilizando SIG livre. **2013**. 84 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Campina Grande – UFCG. Pombal – PB, 2013.
25. REDE DE CAPACITAÇÃO E EXTENSÃO TECNOLÓGICA EM SANEAMENTO AMBIENTAL. RECESA. Esgotamento sanitário. Operação e manutenção de sistemas simplificados de tratamento de esgotos: Guia do profissional em treinamento: nível 2 / Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental (org.). – Belo Horizonte - MG, **2008**.
26. RIBEIRO, R. L. P. Análise da viabilidade ambiental e econômica para implantação de aterro sanitário em Sarandi – RS. **2011**. 68 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenheiro Ambiental) – Faculdade de Engenharia e Arquitetura da Universidade de Passo Fundo. Passo Fundo, 2011.
27. SILVA, N. L. S. Aterro sanitário para resíduos sólidos urbanos - RSU – matriz para seleção da área de implantação. **2011**. 67f. Monografia (Bacharelado em Engenharia Civil) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Departamento de Tecnologia. Feira de Santana - BA, 2011.
28. SILVA, M. A. da. Diagnóstico do Gerenciamento dos Resíduos Sólidos Provenientes do Matadouro Público do Município de Pombal - PB. **2017**. 62f. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, Campus de Pombal-PB. Pombal - PB, 2017.
29. SILVA, S. S. F. da., *et al*. **2012**. Indicador de Sustentabilidade Pressão –Estado – Impacto – Resposta no Diagnóstico do Cenário Sócio Ambiental resultante dos Resíduos Sólidos Urbanos em Cuité, PB. In: REUNIR – Revista de Administração, Contabilidade e Sustentabilidade. Vol. 2, nº 3 – Edição Especial Rio +20, Ago. p.76-93.
30. O SANTOS, J.G.; CÂNDIDO, G.A. Geração e manejo dos resíduos sólidos resultantes das atividades turísticas de Porto de Galinhas – PE. Revista Brasileira de Pesquisa em Turismo. vol. 9, núm. 1, enero-abril, **2015**, p. 40-58. Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=504151941004>. Acesso em: 28 de jul. 2016.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

***Tabela 1**. Geração de resíduos sólidos domiciliares e resíduos de limpeza pública para os municípios da região geoadministrativa de Pombal*

Municípios	**População (hab) 2014**	**Resíduos sólidos domiciliares**	
		Geração Per capita (kg/hab.dia)	Produção (kg/dia)
Aparecida	8.531	0,58	4.948
Cajazeirinhas	3.110	0,58	1.804
Condado	6.620	0,58	3.840
Lagoa	4.775	0,58	2.770
Paulista	12.004	0,58	6.962
Pombal	32.173	0,41	13.191
São Bentinho	4.380	0,58	2.541
São Domingos	3.012	0,58	1.747
Vista Serrana	3.682	0,58	2.135

Fonte: Adaptado de PERS-PB (2014).

***Quadro 1.** Faixa de variação da geração per capita*

Tamanho da cidade	**População urbana (hab)**	**Geração per capita (kg/hab/dia)**
Pequena	Até 30 mil	0,50
Média	De 30 mil a 500 mil	De 0,50 a 0,80
Grande	De 500 mil a 5 milhões	De 0,80 a 1,00
Megalópole	Acima de 5 milhões	Acima de 1,00

Fonte: Monteiro et al. (2001).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Quadro 2. *Restrições para seleção de áreas*

Critérios	Restrição
(I) Proximidade a cursos d'água relevantes	Distância mínima de 200 m, a qualquer coleção hídrica ou curso d'água NBR 13.896 (ABNT, 1997). E a menos de 50 metros de valas de drenagem que pertençam ao sistema de drenagem (MONTEIRO *et al.* 2001).
(II) Distância de vias	Distância mínima de 100 m das vias RECESA (2008).
(III) Proximidade a núcleos residenciais urbanos	Distância superior a 500 m dos núcleos residenciais, NBR 13.896 (ABNT, 1997).
(IV) Vida útil mínima	Vida útil mínima de 10 anos para os aterros sanitários NBR 13.896 (ABNT, 1997).
(V) Permeabilidade natural do solo	Solo deve possuir características argilosas jamais arenosas (MONTEIRO *et al*., 2001).
(VI) Uso do solo	As áreas devem ter uso rural ou industrial e está fora de Unidades de Conservação Ambiental (MONTEIRO *et a*l., 2001).
(VII) Declividade	Declividade superior a 1% e inferior a 30% para instalação de aterro sanitário, NBR 13.896 (ABNT, 1997)
(VIII) Custo de investimento em construção e infraestrutura	A área deverá de infraestrutura completa (abastecimento de água, coleta e tratamento de esgotos, drenagem de águas pluviais, distribuição de energia elétrica e telefonia) (MONTEIRO *et al*., 2001).
(IX) Custo com manutenção do sistema de drenagem	Recomenda-se área com relevo suave", para reduzir a erosão do solo e "reduzir os gastos com a limpeza e manutenção dos componentes do sistema de drenagem" (MONTEIRO *et al.*, 2001).
(X) Distância de núcleos urbanos de baixa renda	Recomenda distancia destes núcleos, para evitar a catação do lixo como forma de sobrevivência, e acabar gerando para as prefeituras responsabilidades sociais e políticas (MONTEIRO *et al*., 2001).
(XI) Legislação Municipal	Análise da legislação municipal no que define ações a serem obedecidas quanto à destinação final de resíduos e o uso do solo.

Fonte: Adaptado de Monteiro *et al.* (2001); PROSAB (2003); RECESA (2008); ABNT (1997); Silva (2011).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Quadro 3. Restrições para seleção de áreas

Critérios	Prioridade	Peso	Peso (%)	Atendimento
Atendimento ao Sistema de Licenciamento de Atividades Poluidoras (SLAP) e à legislação ambiental em vigor	1	10	100	Total (T)
Atendimento aos condicionantes político-sociais	2	6		
Atendimento aos principais condicionantes econômicos	3	4	50%	Parcial (P)
Atendimento aos principais condicionantes técnicos	4	3		
Atendimento aos demais condicionantes econômicos	5	2	0%	Não atende (NA)
Atendimento aos demais condicionantes técnicos	6	1		

Fonte: Adaptado de Monteiro *et al*. (2001); PROSAB (2003); RECESA (2008); ABNT (1997); Silva (2011).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

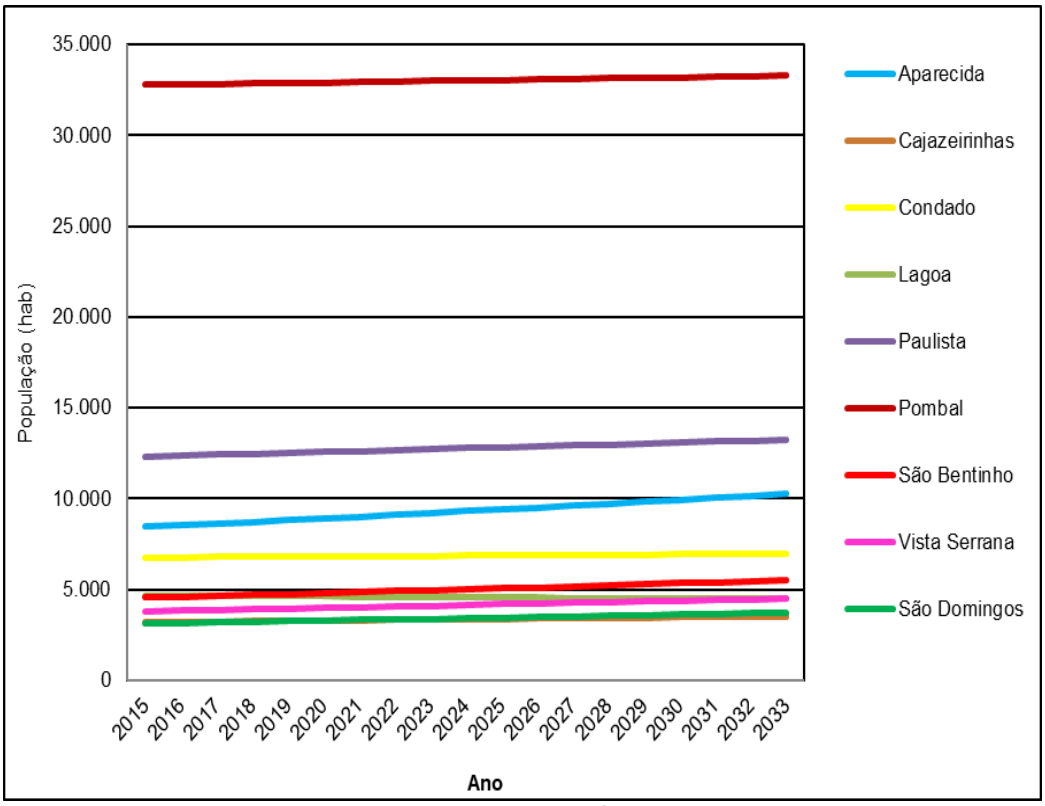


Figura 2. *Projeção populacional dos municípios consorciados para o horizonte de planejamento do aterro*
Fonte: Elaboração própria.

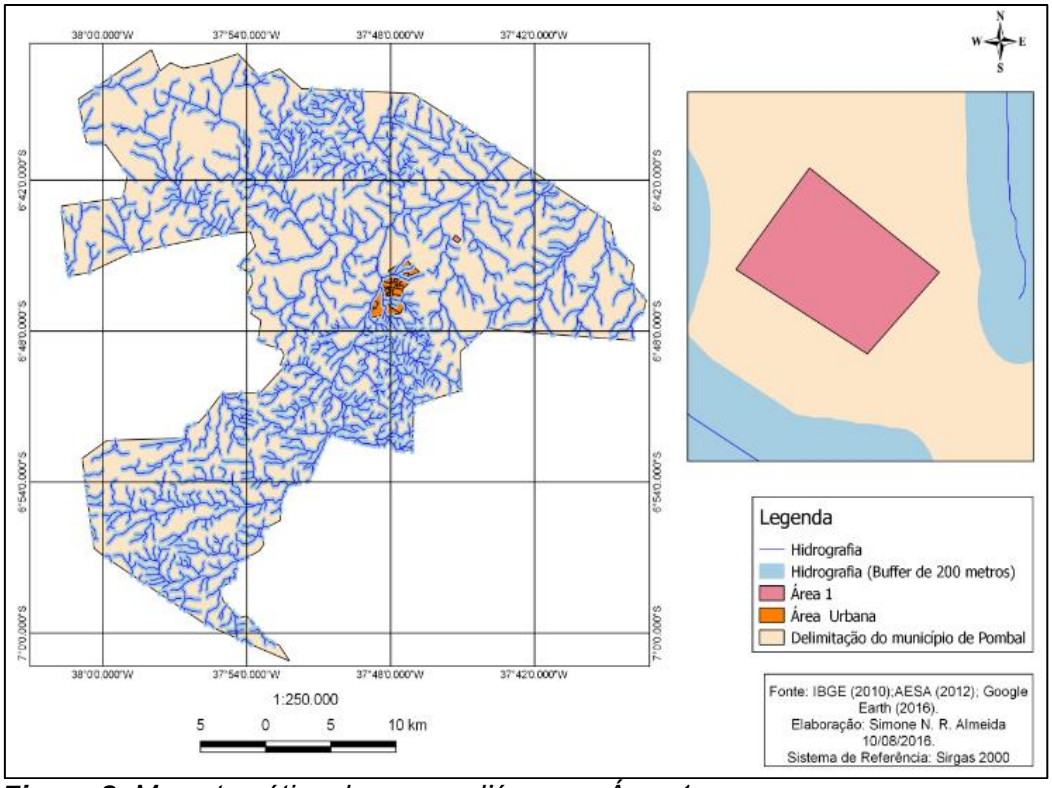


Figura 3*. Mapa temático de cursos d'água na Área 1*
Fonte: Elaboração própria.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

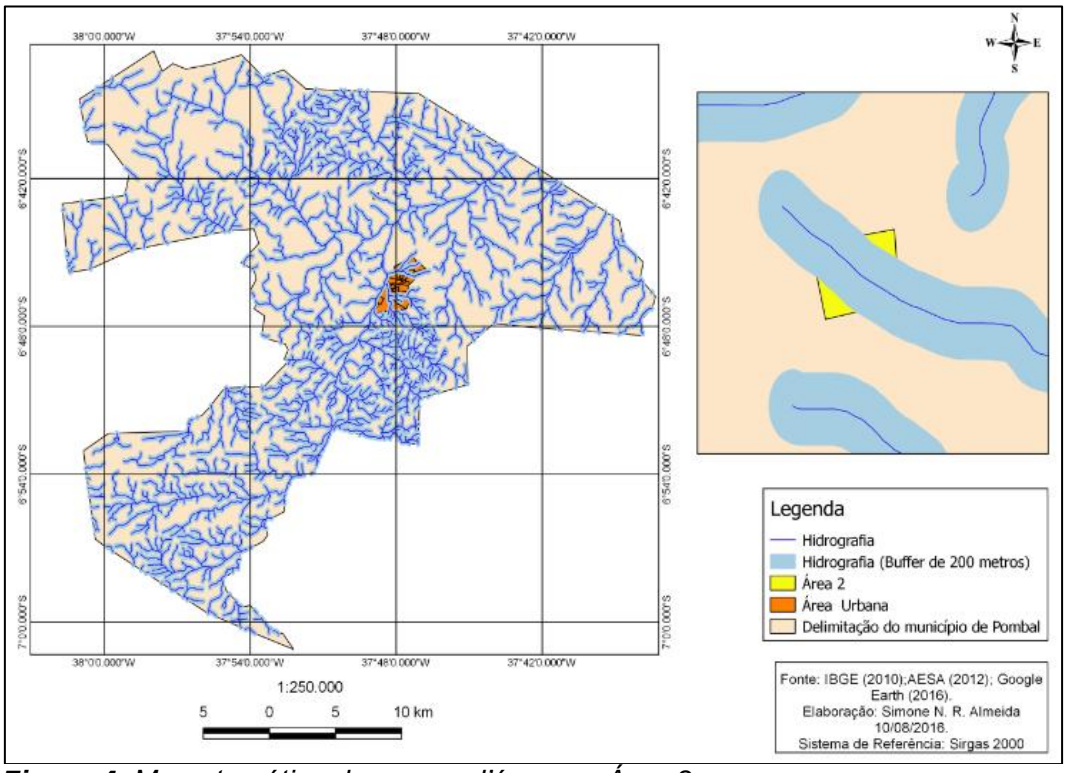


***Figura 4**. Mapa temático de cursos d'água na Área 2*
Fonte: Elaboração própria.

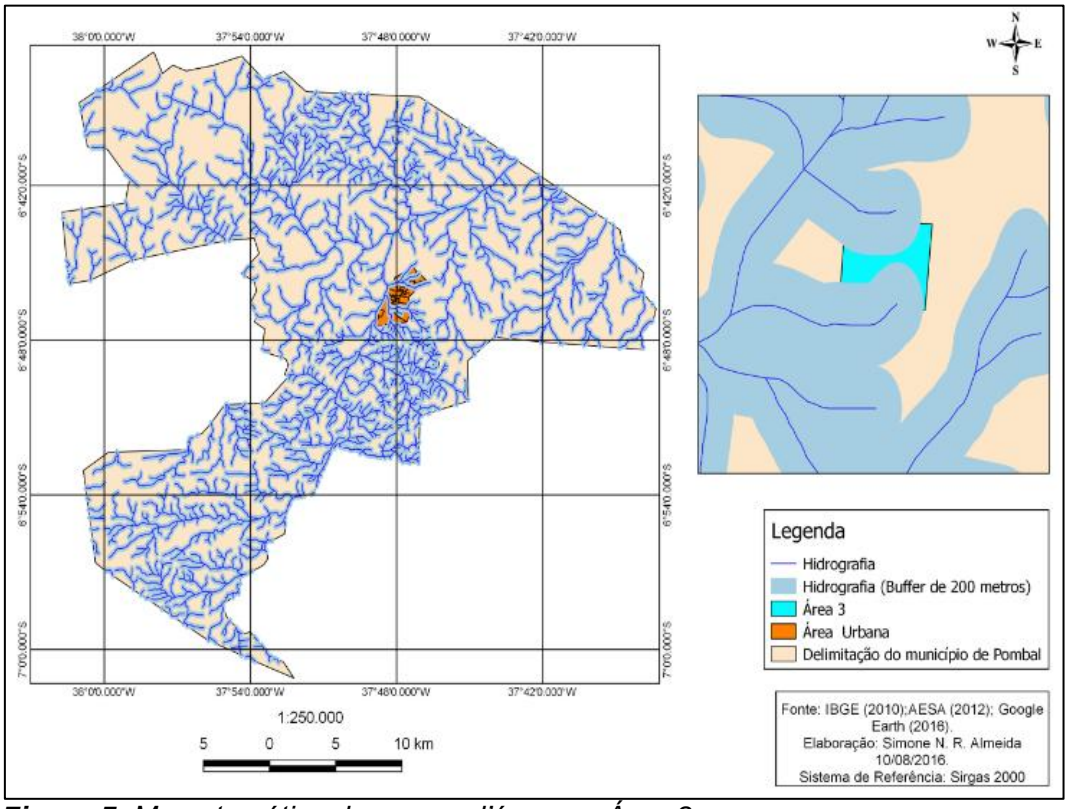


***Figura 5**. Mapa temático de cursos d'água na Área 3*
Fonte: Elaboração própria.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

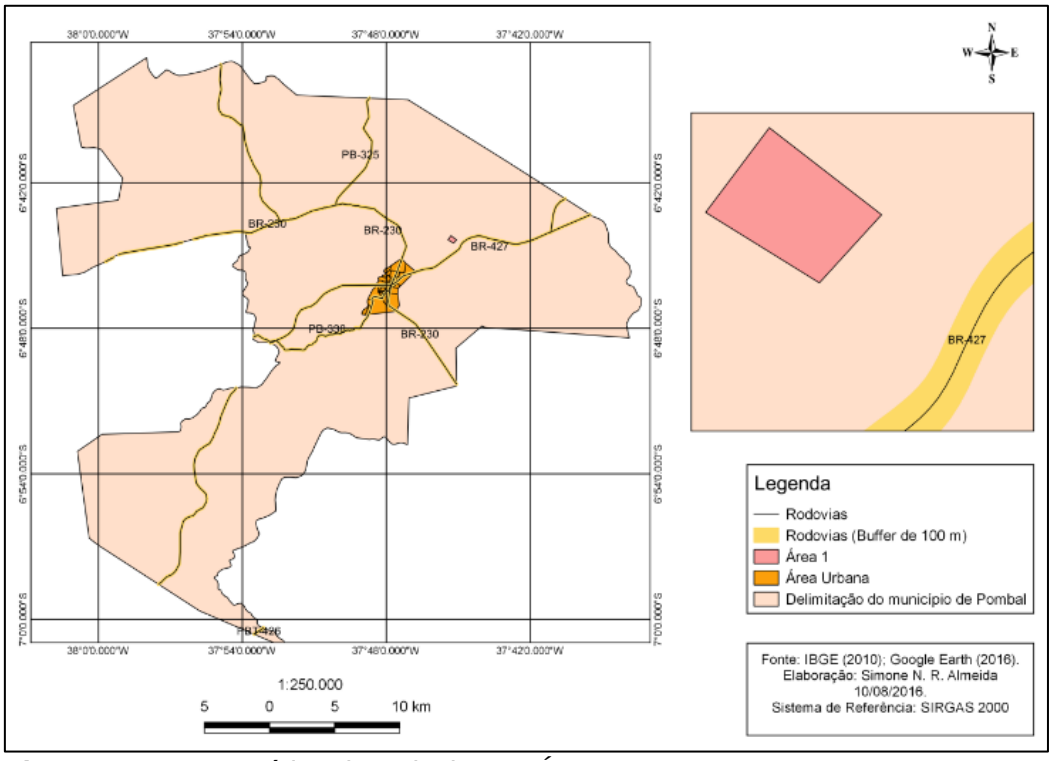


***Figura 6**. Mapa temático de rodovias na Área 1*
Fonte: Elaboração própria.

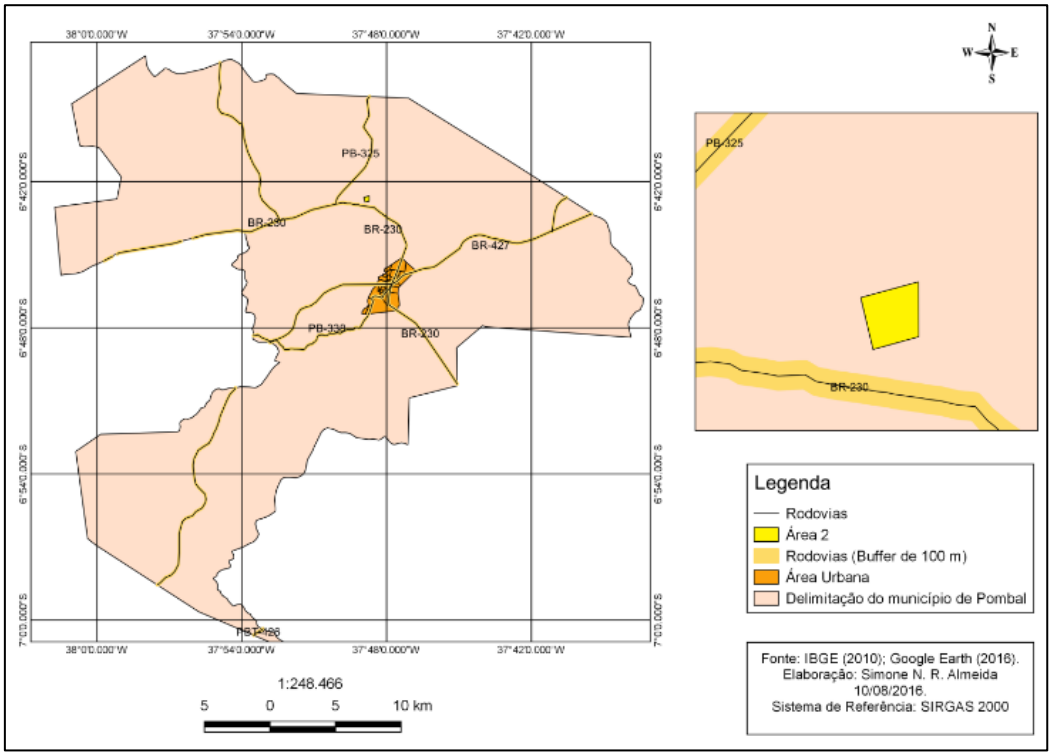


***Figura 7**. Mapa temático de rodovias na Área 2*
Fonte: Elaboração própria.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

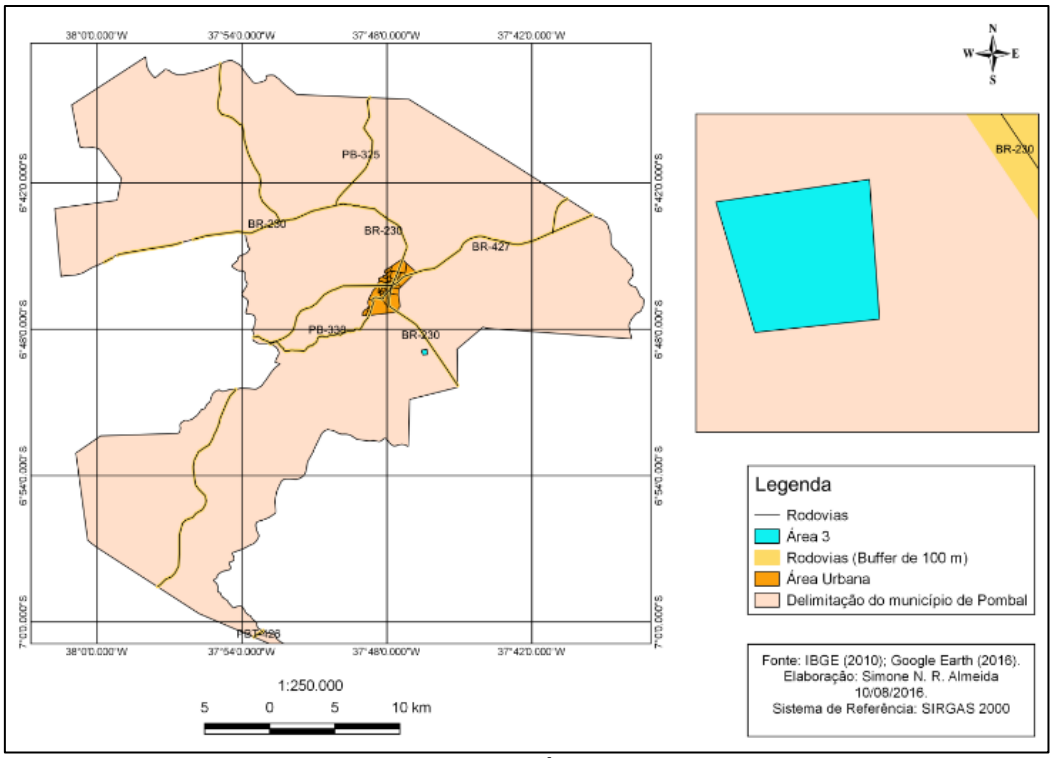


***Figura 8**. Mapa temático de rodovias na Área 3*
Fonte: Elaboração própria.

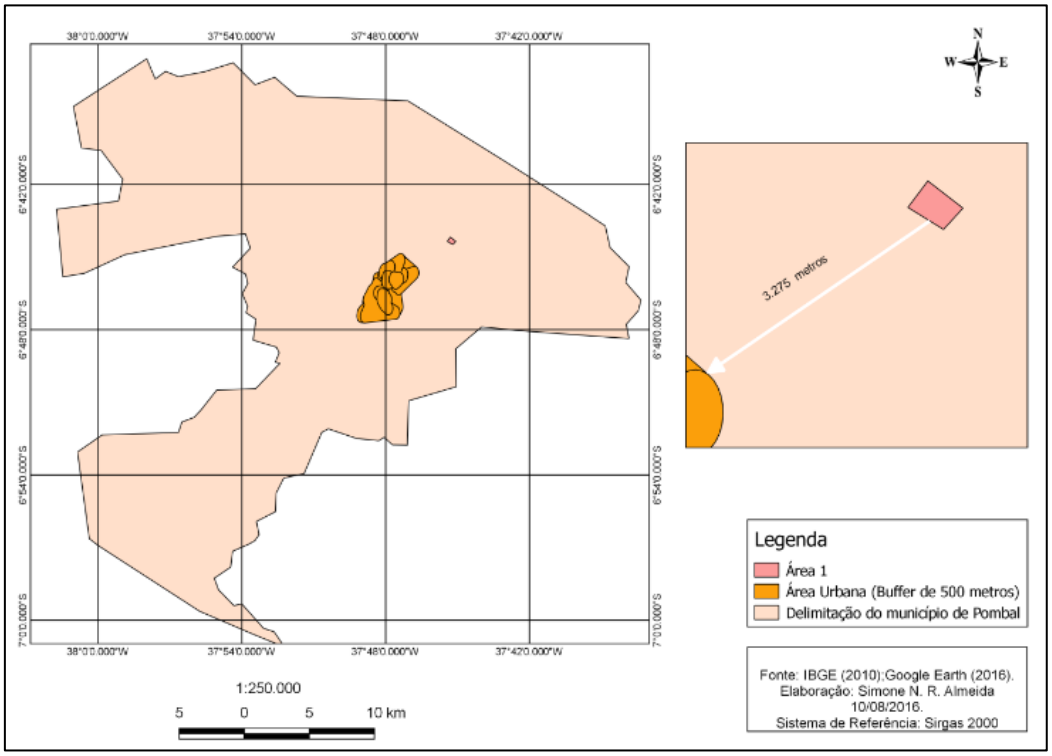


***Figura 9**. Mapa temático de núcleos populacionais na Área 1*
Fonte: Elaboração própria.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

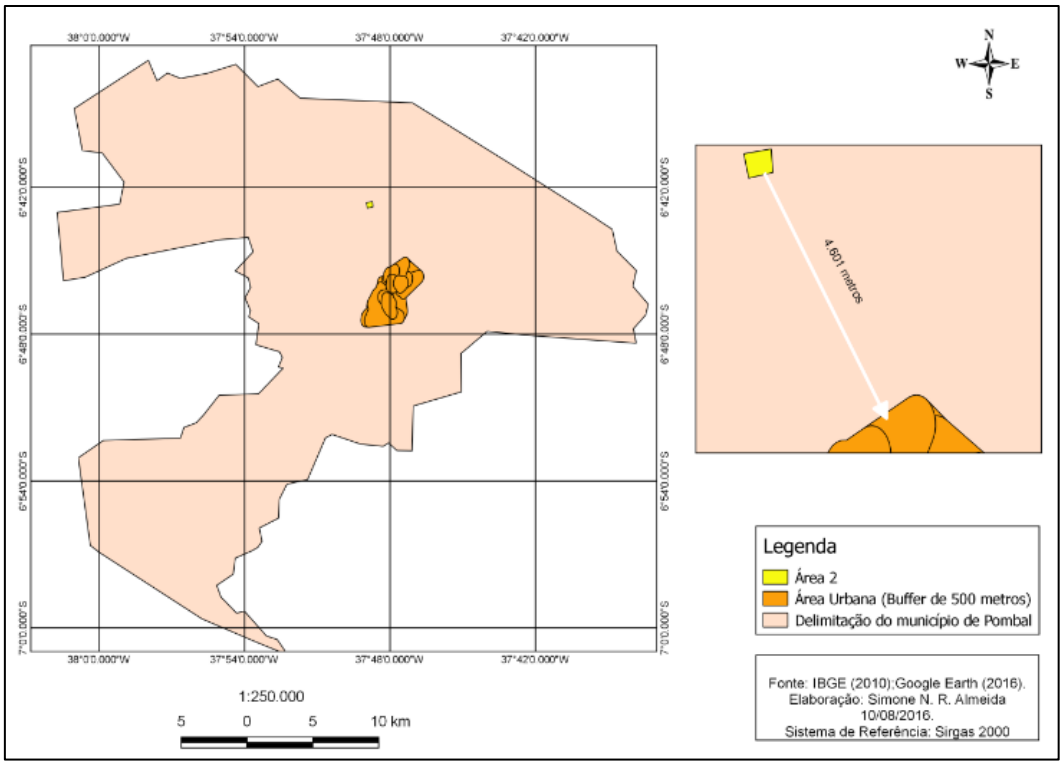


***Figura 10**. Mapa temático de núcleos populacionais na Área 2*
Fonte: Elaboração própria.

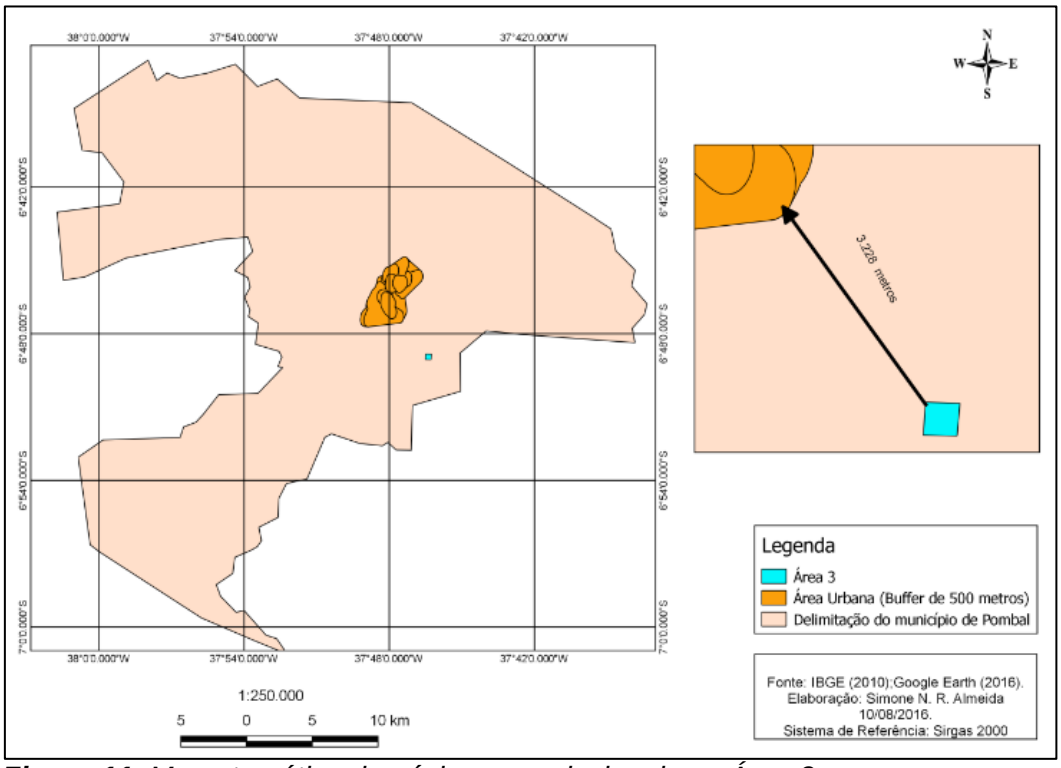


***Figura 11**. Mapa temático de núcleos populacionais na Área 3*
Fonte: Elaboração própria.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

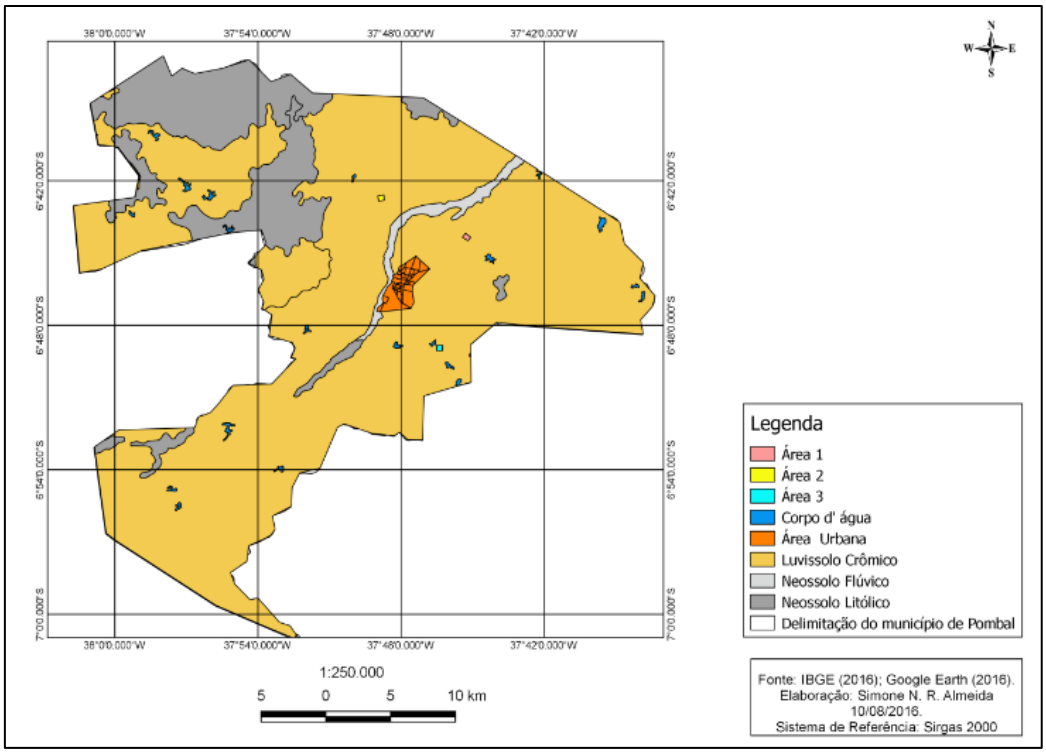


***Figura 12**. Mapa temático de permeabilidade natural do solo nas Áreas 1, 2 e 3*
Fonte: Elaboração própria.

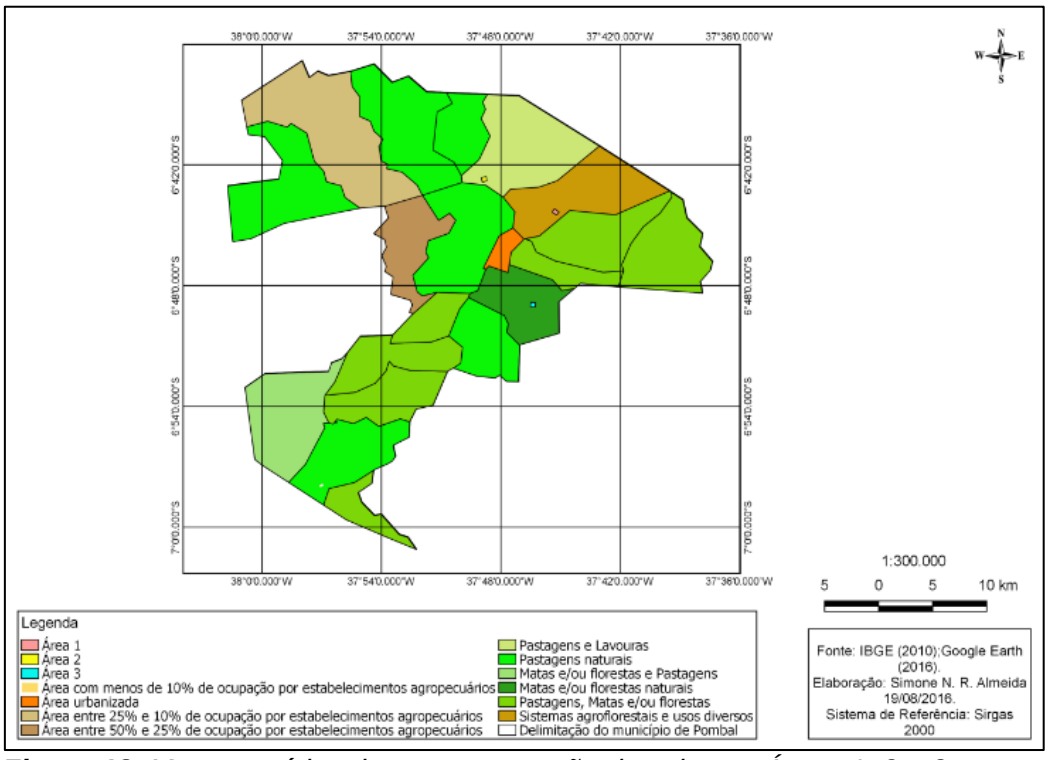


***Figura 13**. Mapa temático de uso e ocupação do solo nas Áreas 1, 2 e 3*
Fonte: Elaboração própria.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

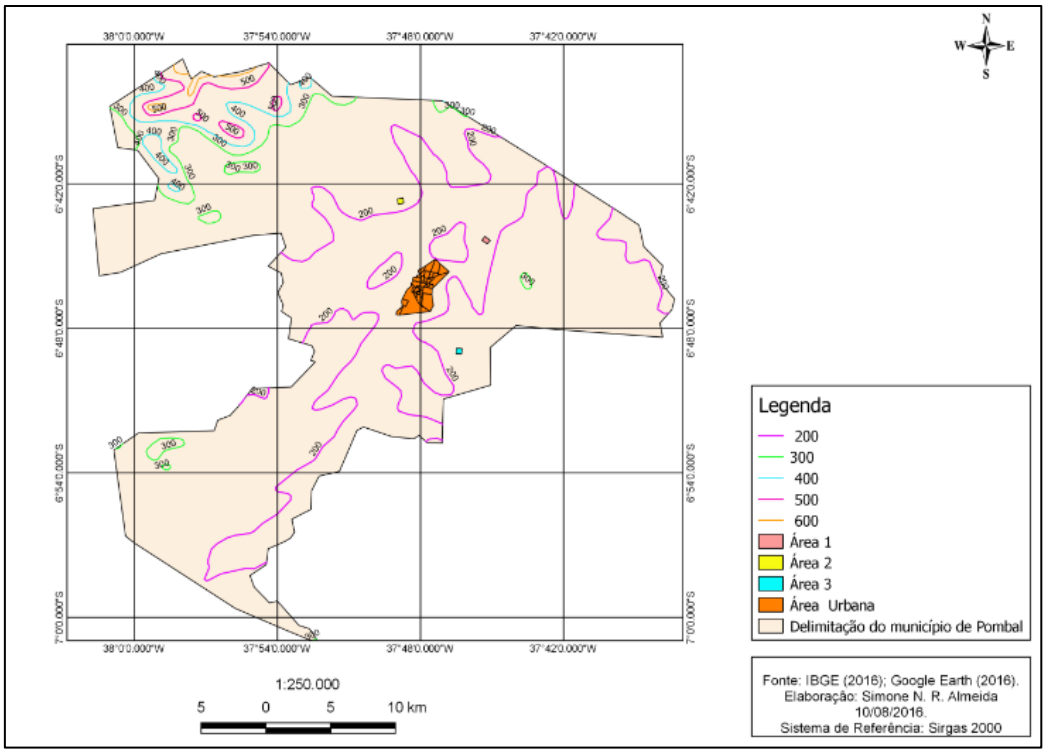


Figura 14. *Mapa temático de declividade nas Áreas 1,2 e 3*
Fonte: Elaboração própria.

Tabela 2. *Geração de resíduos para o período de 20 anos*

Municípios	Geração (ton.)	Volume acumulado (m³)
Aparecida	83,99	37.554
Cajazeirinhas	30,25	13.525
Condado	61,71	27.591
Lagoa	41,11	18.381
Paulista	114,97	51.408
Pombal	298,36	133.409
São Bentinho	45,13	20.180
São Domingos	30,77	13.757
Vista Serrana	37,32	16.689
TOTAL	**743,60**	**313.937**

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

***Quadro 4**. Avaliação do Atendimento das áreas selecionadas*

Critérios*	Prioridade	Atendimento		
		A 1	A 2	A 3
(I)	1	T	NA	NA
(II)	4	T	T	T
(III)	1	T	T	T
(IV)	4	T	T	T
(V)	4	T	T	T
(VI)	4	T	T	T
(VII)	4	T	T	T
(VIII)	3	NA	NA	NA
(IX)	5	P	P	P
(X)	2	T	T	T
(XI)	1	P	P	P

FONTE: Adaptado de Monteiro *et al*. (2001). Nota: * critérios descritos no Quadro 1; A 1: área 1 T: atende totalmente; P: atende parcialmente; NA: não atende.

***Quadro 5**. Ponderação das áreas selecionadas*

Critérios*	PP	PAT			PA		
		A 1 %	A 2%	A 3 %	A 1	A 2	A 3
(I)	10	100	0	0	10	0	0
(II)	3	100	100	100	3	3	3
(III)	10	100	100	100	10	10	10
(IV)	3	100	100	100	3	3	3
(V)	3	100	100	100	3	3	3
(VI)	3	100	100	100	3	3	3
(VII)	3	100	100	100	3	3	3
(VIII)	4	0	0	0	0	0	0
(IX)	2	50	50	50	1	1	1
(X)	6	100	100	100	6	6	6
(XI)	10	50	50	50	1	1	1
Pontuação Total					**48**	**33**	**33**

FONTE: Adaptado de Monteiro *et al.* (2001). Nota: * critérios descritos no Quadro 2; A 1: área 1. PP: pontuação das prioridades; PAT: pontuação do atendimento; PA: pontuação das áreas.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

DETERMINAÇÃO DE BTEX EM AMOSTRAS AMBIENTAIS: DESENVOLVIMENTO E PROTEÇÃO DAS TECNOLOGIAS E MÉTODOS ANALÍTICOS

DETERMINATION OF BTEX IN ENVIRONMENTAL SAMPLES: DEVELOPMENT AND PROTECTION OF TECHNOLOGIES AND ANALYTICAL METHODS

PINHEIRO, Helilma de Andréa[1*]; FERREIRA, Ana Paula Mota[1]; ALVES, Ismael Carlos Braga[2]; SANTOS JÚNIOR, Antônio Fernandes[2]; SAWCZUK, Raquel Bezerra dos Santos[2]; VIEGAS, helmara diniz costa[2]; MARQUES, Aldaléa Lopes Brandes[1]; NUNES, Gilvanda Silva[1]

[1]Programa de PG em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal-Rede BIONORTE, Universidade Federal do Maranhão, São Luís-MA, Brasil. Av. dos Portugueses, 1966 - São Luís-MA - CEP: 65080-805 Fone (98) 3272-9530

[2] Programa de PG em Química, Universidade Federal do Maranhão, São Luís-MA, Brasil. Av. dos Portugueses, 1966 - São Luís-MA - CEP: 65080-805
Fone (98)3272 8246

** Autor correspondente:helilmapinheiro@hotmail.com*

Received 08 August 2018; received in revised form 05 November 2018; accepted 10 November 2018

RESUMO

A contaminação da água e solo por hidrocarbonetos de petróleo é relatada com bastante frequência, principalmente em função dos acidentes envolvendo transporte e estocagem de combustíveis. Entre os compostos mais tóxicos, destacam-se os mais voláteis benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno (BTEX). Resíduos destes compostos podem ocasionar sérios problemas ambientais e de saúde pública. Assim, técnicas mais sensíveis, seletivas e de baixo custo, voltadas às análises e monitoramento desses contaminantes estão sendo desenvolvidas, no intuito de se estabelecer um controle operacional e atender às legislações locais, mas pouco se sabe em relação à proteção intelectual de tais tecnologias. O presente estudo mostra o panorama acerca das patentes, artigos científicos, teses e dissertações que já surgiram nesse tema. Observou-se que, juntos, os Estados Unidos e a China detêm o maior número de patentes de invenção, e que as teses e dissertações abordam com maior frequência metodologias para detecção de BTEX em água, não obstante inúmeros distúrbios ambientais causados por derramamentos de óleos no solo tenham sido reportados. Também, os métodos baseados em técnicas cromatográficas se sobressaem em relação às demais técnicas. Foi possível verificar, no entanto, avanços importantes no campo de sensores, sobretudo os eletroquímicos, de forma a resolver as lacunas analíticas.

Palavras-chave: *análises de BTEX; amostras ambientais; propriedade intelectual.*

ABSTRACT

The contamination of water and soil by petroleum hydrocarbons is reported quite frequently, mainly due to accidents involving transport and storage of fuels. Among the most toxic compounds the most volatile benzene, toluene, ethylbenzene and xylene (BTEX). Residues of these compounds can cause serious environmental and public health troubles. Thus, more sensitive, selective and low-cost techniques, focused on the analysis and monitoring of these contaminants are being developed in order to establish operational control and to comply with local laws, but the intellectual property of such technologies is still unknown. The present study shows the panorama about patents, thesis and dissertations which have been already published on this theme. Together, the United States and China hold the largest number of patents, and most of thesis/dissertations describe methodologies for BTEX detection in water, although numerous environmental problems caused by oils in the soil had been reported. Also, the methods based on chromatographic techniques stand out in relation to the other techniques. It was possible to verify important advances in the field of sensors,

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

especially the electrochemical ones, in order to solve the analytical gaps.

Key-words: BTEX analysis; environmental samples; intellectual property

INTRODUÇÃO

Problemas de contaminação das águas superficiais e subterrâneas muitas vezes estão associados à presença de hidrocarbonetos de petróleo, em particular os hidrocarbonetos aromáticos especiais, como benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno (BTEX). Nos países da União Européia, no Brasil e nos Estados Unidos da América, a principal fonte de contaminação por BTEX nos solos e nas águas subterrâneas deve-se a vazamentos de tanques de armazenamento subterrâneo para gasolina e diesel (LEE *et al*., 2008; CESARINO *et al*., 2012).

Também, devido à expansão da frota de veículos no Brasil, tem-se como consequência o crescimento desordenado de postos de combustíveis. O impacto ambiental direto reflete principalmente na contaminação do solo e das águas por vazamentos nos tanques de combustíveis desses estabelecimentos (LOPES, 2011).

BTEX são os constituintes da gasolina que têm maior solubilidade em água e, portanto, havendo vazamento de combustíveis, estes são os contaminantes que primeiro irão atingir o lençol freático, e caso ocorra derramamento no solo, é provável a lixiviação desses compostos, pelas água das chuvas, para os corpos d'água superficiais (CORSEUIL *et al*.,1994; SILVA *et al*., 2002). A legislação voltada para a saúde pública brasileira tem sido baseada nos estudos toxicológicos e os valores máximos permitidos (VMPs) para os compostos benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos em água para consumo humano são de 5, 170, 200 e 300 $\mu g.L^{-1}$, respectivamente (Portaria N° 2.914/2011 do Ministério da Saúde). O benzeno é reconhecidamente o mais tóxico de todos os BTEX (SILVA *et al*., 2002), e quando há casos de acidentes envolvendo derramamentos de óleos e/ou gasolina, a concentração de benzeno dissolvido na água pode chegar a $3x10^{4}$ $\mu g.L^{-1}$ (MENDES, 1993).

Nas últimas décadas, o tema *derramamento de óleo* tem sido cada vez mais evidenciado pela comunidade cientifica, em função da sua elevada toxicidade, chamando a atenção dos gestores e legisladores, que paulatinamente tornaram as leis mais rígidas e restritivas. A Resolução N° 396/2008, do Conselho Nacional do Meio Ambiente, CONAMA, estabelece os níveis de concentrações de poluentes em todos os tipos de águas, e enquadra os BTEX como sendo de elevada periculosidade. Por sua vez, a Resolução N° 273/2000 dispõe sobre prevenção e controle da poluição em postos de combustíveis e serviços.

Existem vários trabalhos publicados acerca da detecção de substâncias derivadas de combustíveis em diferentes matrizes ambientais e biológicas. Os métodos descritos na literatura para determinação de BTEX e seus derivados em geral são baseados nas técnicas cromatográficas (SARAFRAZ-YAZDI *et al*., 2013; GEBARA *et al*., 2013) e espectroanalíticas (BULEANDRA *et al*., 2017; QIN *et al*., 2014). Contudo, têm sido encontrados também métodos de detecção baseados no uso de sensores eletroquímicos (MORAES *et al*., 2011; SYS *et al*., 2013). Tais métodos são, por natureza, rápidos, seletivos e altamente sensíveis.

O presente trabalho objetivou, pois, realizar uma prospecção acerca das metodologias voltadas à análise dos BTEX em amostras ambientais, com especial ênfase aos métodos eletroanalíticos. Pretendeu-se, ainda, apresentar um panorama em relação aos processos de propriedade intelectual das criações científicas e tecnológicas relacionadas ao tema.

PARTE EXPERIMENTAL

Este trabalho constituiu-se de uma pesquisa documental exploratória de abordagem quantitativa, tendo sido realizada no período de outubro a novembro de 2017. A pesquisa fundamentou-se na busca de patentes depositadas na base nacional (Instituto Nacional de Propriedade Industrial, INPI) e nas bases internacionais (*European Patent Office, EPO* ou *Espacenet, Derwent Innovations Index* e *United States Patent and Trademark Office, US-PTO*). Para a prospecção científica, foram realizadas buscas de teses/dissertações diretamente no Portal da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, bem como

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

buscas por artigos nas seguintes bases de dados: Portal de Periódicos da Capes, *Science Direct* e *Google* Acadêmico.

Foram utilizadas as seguintes palavras-chave, em português, que foram traduzidas para o inglês, por ocasião das buscas nas bases estrangeiras: Sensores ***and*** BTEX; Controle ***and*** BTEX **and** água; Controle ***and*** BTEX **and** solo; Método ***and*** detecção ***and*** BTEX; Detecção ***and*** método ***and*** BTEX; Método ***and*** detecção ***and*** BTEX ***and*** água*;* Detecção ***and*** btex ***and*** solo; Detecção ***and*** benzeno ***and*** xileno ***and*** tolueno ***and*** etilbenzeno; Método ***and*** benzeno ***and*** xileno ***and*** tolueno ***and*** etilbenzeno. Foram considerados válidos os documentos que apresentassem esses termos no título ou resumo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A Tabela 1 apresenta os documentos de patentes recuperados da busca empregando as palavras chaves e suas combinações.

Existem vários trabalhos descritos na literatura sobre a detecção de substâncias derivadas de combustíveis em diferentes matrizes. De acordo com Dias *et al*., (2014), as estatísticas de patentes estão sendo cada vez mais reconhecidas como indicadores úteis da atividade inventiva e de fluxos de tecnologia, o que justifica os números encontrados na Tabela 1. Realizou-se uma seleção e descarte das patentes relacionadas a temas correlatos. O critério de exclusão baseou-se em analisar somente as matrizes água e solo.

Após a triagem, apenas 18 patentes alcançaram com maior precisão o objetivo almejado nesta busca, de acordo com o tema principal (métodos de detecção de hidrocarbonetos BTEX em água e solo), sendo este considerado um quantitativo bem reduzido. As patentes selecionadas foram analisadas mais detalhadamente para obtenção das informações contidas nas Figuras 1 e 2.

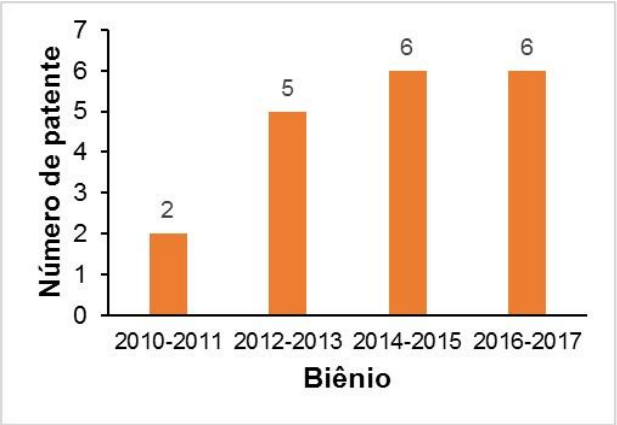


Figura 1. *Quantitativo das patentes de invenção diretamente relacionadas ao tema análises de hidrocarbonetos BTEX em amostras ambientais.*
Fonte: Autores (2018)

A Figura 1 indica que as patentes recuperadas tiveram seus depósitos em diferentes anos, e que houve igual número de patentes de invenção relacionadas ao desenvolvimento desses métodos nos dois últimos biênios. Contudo, o número de patentes ainda é inexpressivo. Evidentemente, a produção de patentes reflete o grau de desenvolvimento de uma dada tecnologia; com base nessa assertiva, percebe-se que o cenário é preocupante e indica claramente a necessidade de investimento neste campo. A Química Analítica Ambiental está alicerçada no desenvolvimento de métodos analíticos eficientes, ou seja, que possuem elevadas exatidão, sensibilidade, precisão, robustez e rapidez na obtenção dos resultados. No tocante à detecção dos BTEX, ainda há uma carência por métodos a um só tempo sensíveis e rápidos. Os Estados Unidos e a China são os países que detêm maior número de métodos desenvolvidos e protegidos para determinação de BTEX, seguido do Brasil (Figura 2). De acordo com Dias *et al*. (2014), estes resultados refletem na situação real, pois os Estados Unidos e a China são os países mundialmente reconhecidos por investirem maciçamente em C&T, com consequente crescimento tecnológico em várias áreas do conhecimento.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

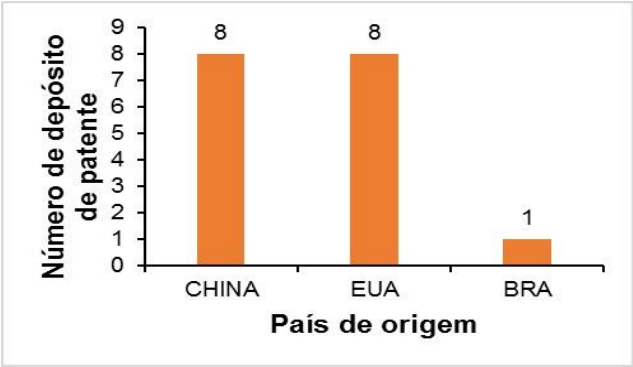


Figura 2. *Relação entre o país de origem e o número de patentes depositadas*
Fonte: Autores (2018)

A Tabela 2 apresenta o número de patentes encontradas em função da Classificação Internacional de Patentes (IPC). Observou-se no banco de depósitos do INPI, um maior número de patentes para a classificação Química, correspondente à letra C, dentro do tema hidrocarbonetos – BTEX e sensores.

Observou-se que o código G06T 7/00, no banco de dados do INPI, apresentou o maior número de patentes depositadas (365), seguidas de 134 concedidas sendo todas equivalentes ao tema em estudo. No banco de dados do *US-PTO,* após a busca no Códigos de IPC G06T 7/00, foi observado o maior número de patentes, seguido do código G01N 33/18. Na base de patentes *Derwent* não foi recuperado nenhum documento de patente, mesmo após refinamento por classificação IPC, o que evidenciou a importância de se fazer tal recurso, pois as palavras-chave não raramente computam documentos que não estão diretamente relacionados ao conteúdo de interesse.

Nas Tabelas 3 e 4 estão organizados os resultados da pesquisa da produção científica (artigos científicos, teses e dissertações) por palavras-chave, publicadas de 2010 até os dias de hoje.

Nota-se que existe um elevado número de publicações que envolvem o tema em questão, evidenciando que os pesquisadores têm priorizado as publicações de artigos em detrimento aos depósitos de patentes para proteção dos resultados de suas pesquisas. Realizando uma análise minuciosa dos dados da Tabela 3, torna-se evidente que a base *Google Acadêmico* contribuiu mais no tocante ao número de artigos recuperados (17.400), seguido das bases *Periódicos Capes e Science Direct.*

Tabela 4. *Quantidade de Teses e dissertações por palavras-chave e agrupamento das palavras*

Palavras-chaves	Teses e dissertações
Sensores AND Btex	154
controle AND btex AND água	876
controle AND btex AND solo	781
Método AND detecção AND btex	686
Detecção AND métodos AND betx	1360
Método AND detecção AND btex AND água	18
detecção AND btex AND solo	558
detecção AND benzeno AND xileno AND tolueno AND etilbenzeno	803
Método AND benzeno AND xileno AND tolueno AND etilbenzeno	1210

Fonte: Autores (2018)

Observou-se que para os resultados sobre teses ou dissertações, publicadas de 2010 até os dias de hoje, apenas 18 arquivos responderam melhor o tema pesquisado, sendo selecionados para uma análise mais detalhada.

A Figura 3 mostra o percentual de teses/dissertações de métodos desenvolvidos para análise dos contaminantes em diferentes tipos de matrizes analisadas. Existem vários trabalhos relacionados à análise de BTEX em amostras de água, solo e ar, com predominância de métodos para análise na matriz água.

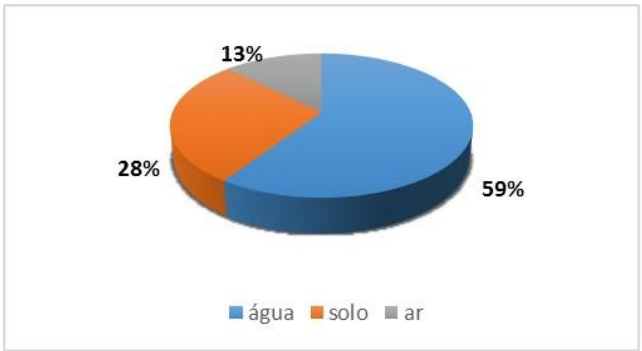


Figura 3. *Percentual de teses/dissertações relacionadas à análise de BTEX em diferentes tipos de matrizes.*
Fonte: Autores (2018)

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Considerando principalmente a determinação de traços de BTEX encontrados em água e em outras matrizes ambientais (SENTHIL KUMAR *et al*., 2017; BAIMATOVA *et al*., 2016; GONZÁLEZ *et al*., 2017), atualmente observa-se uma tendência na realização de trabalhos científicos que envolvem desenvolvimento, otimização e validação de métodos analíticos. Porém, alguns métodos que surgiram como sendo novos, são baseados em técnicas cromatográficas convencionais, com algum aspecto inovador na etapa de tratamento da amostra (GONZÁLEZ *et al*., 2017; BAIMATOVA *et al*., 2016). Em outros trabalhos, é possível perceber o elevado potencial inovador do método analítico desenvolvido, como por exemplo os que envolvem sensores (ZHANG *et al*., 2013; SARAFRAZ-YAZDI *et al*., 2015) e imunoensaios (GHINI *et al*., 2013) mas estes nunca chegaram a ser protegidos por patentes. Quando muito, são divulgados em artigos científicos e apresentações de trabalhos em eventos científicos.

Na Figura 4 é apresentado o percentual de teses/dissertações relacionadas à determinação de BTEX, sendo os métodos classificados de acordo com a técnica empregada. Entre as técnicas cromatográficas mais utilizadas, destacam-se: cromatografia a líquido acoplada à espectrometria de massas (LC/MS e LC/MS-MS) (CAMACHO, 2015) e cromatografia a gás com detecção por ionização de chama (GC/FID) (ANJOS, 2012) Métodos baseados em técnicas eletroanalíticas (SANTOS, 2012; SILVA, 2013) e espectrofotométricas (ROSOLINO, 2012) também foram desenvolvidos.

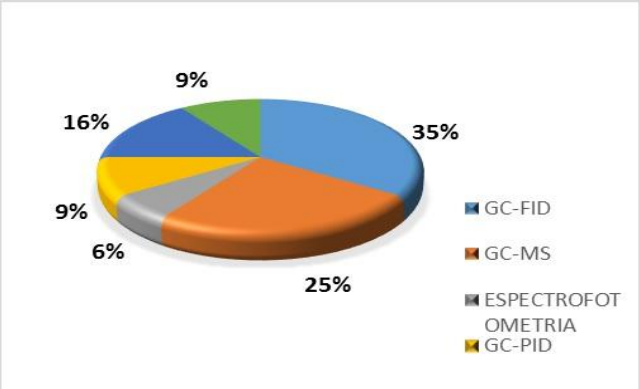


Figura 4. *Distribuição de teses/dissertações relacionadas à determinação de BETX, mediante classificação pela técnica instrumental explorada. na metodologia analítica*
Fonte: Autores (2018)

A determinação de traços de BTEX nas mais diferentes matrizes ambientais tem sido realizada tradicionalmente utilizando-se a técnica de separação/pré-concentração prévia por *headspace* (HS), em um sistema de microextração em fase sólida (MEFS), seguida pela análise por cromatografia a gás.

Ainda na Figura 4 é possível verificar que, no que diz respeito às metodologias de detecção encontradas, o maior destaque é para as técnicas cromatográficas de separação, corroborando com os achados de Bezerra (2011). Firmino (2013) estudou o planejamento experimental multivariado que permitiu a otimização das condições analíticas de extração por *headspace,* seguida de cromatografia gasosa com detecção por fotoionização em águas e efluentes contaminados por BTEX, a fim de avaliar o uso de reatores biológicos, sob condições anaeróbias e microaeróbias. Tal estudo representou uma elevada contribuição científica, uma vez que são raros os trabalhos que envolvem técnicas de otimização multivariada como o planejamento experimental.

Cesarino *et. al*. (2012) desenvolveu um sensor eletroquímico à base de nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT) e eletrodo de carbono vítreo modificado com ftalociana de cobalto (CoPc) altamente sensível aos subprodutos do benzeno. Depois disso, um biossensor foi preparado à base de nanotubos de carbono multiparedes (MWCNT), contendo como modificadores nucleosídeos de purina, por Gayathria *et al*. (2014). O sensor tem sido então empregado com elevada sensibilidade na detecção electroquímica de benzeno e seus mon di e polissubstituídos derivados.

Apesar da boa aplicabilidade de métodos eletroquímicos em diversas matrizes, ainda existem poucas aplicações na determinação BTEX, como observado na Figura 4; apenas 9% dos métodos descritos correspondem ao preparo e uso de sensores eletroquímicos, fato que motivou a presente pesquisa.

CONCLUSÕES:

O presente trabalho demonstrou um resultado bastante expressivo de publicações na produção cientifica em detrimento dos depósitos de patentes. Teses e dissertações abordaram com maior frequência metodologias para detecção de BTEX através de técnicas cromatográficas, sendo grande parte mediante

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

métodos convencionais e já otimizados. A maioria das patentes envolvendo novos processos para a detecção de BTEX em amostras de água foram depositadas no período de 2014 a 2017, apenas nos Estados Unidos e na China, o que demonstra uma lacuna em relação à proteção intelectual, especialmente no Brasil que apresentou apenas um único depósito nos últimos sete anos.

De um modo geral, observa-se que existe um consenso na busca de procedimentos de preparo de amostra que sejam rápidos, de baixo custo, que, quando necessário, utilizem pequenos volumes de solventes, e que permitam valores de recuperação na faixa aceitável. Também existe ainda uma grande necessidade de se desenvolver técnicas para detecção *in situ* que possam ser consideradas ferramentas capazes de identificar e confirmar a presença desses contaminantes em diferentes matrizes, sejam elas ambientais (água, solo) ou biológicas, com a devida sensibilidade e rapidez.

REFERÊNCIAS:

1. ANJOS, R. B. Avaliação de HPA e BTEX no solo e água subterrânea, em postos de revenda de combustíveis: estudo de caso na cidade de Natal -RN. 2012. 106p. Dissertação. Mestrado em Ciência e Engenharia de Petróleo. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal. 2012.
2. BAIMATOVA, N., KENESSOV, B., KOZIEL, J. A., CARLSEN, L., BEKTASSOV, M., DEMYANENKO, O.P. *Talanta*, 2016, v.154, p. 46-52.
3. BEZERRA, P. G. Contaminação de águas subterrâneas por BTEX na bacia do rio Lucaia, Salvador, Bahia. 2011. 88p. Dissertação. Mestrado em Geoquímica: Petróleo e Meio Ambiente. Universidade Federal da Bahia, Salvador. 2011.
4. BULEANDRA, M.; RABINCA, A. A.; BADEA, I. A.; BALAN, A.; STAMATIN, I.; MIHAILCIUC, C.; CIUCU, A. A. *Microchimica Acta*, 2017, v.184 n.5, p.1481-1488.
5. CAMACHO, L. R. N. Avaliação do comportamento de BTEX e seus metabólitos de biodegradação em solos: Estudos de remedição em microcosmos. São Carlos. 2015. 124p. Tese. Doutorado em Química Analítica. Universidade Federal de São Carlos. 2015.
6. CESARINO, I.; MORAES, F. C.; FERREIRA, T. C.; LANZA, M. R.; MACHADO, S. A. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2012, v. 672, p. 34-39.
7. CORSEUIL, H. X.; MARINS, M. D. M. Revista Engenharia Sanitária e Ambiental, 1997, v.2, n.2, p. 50-54.
8. DIAS, I. C.; COSTA, H. D.; FIRMO, W. C. A.; MENDES, H. B. R.; NUNES, G. S. Revista GEINTEC, 2016, v. 6, n. 1, p. 2874-2884.
9. FIRMINO, P. I. M. Tratamento anaeróbio e microaeróbio de águas sintéticas contaminadas com BTEX. 2013. 168p. Tese. Doutorado em Engenharia Civil. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2013.
10. GAYATHRI, S. B.; KAMARAJB, P.; & ARTHANAREESWARIC, M. International Journal of Multidisciplinary and Current Research, 2014, v. 2, p. 211-217.
11. GEBARA, S. S.; RÉ-POPPI, N.; DO NASCIMENTO, A. L. C. S.; & JUNIOR, J. L. R. Química Nova, 2013, v.36, p.1030-1037.
12. GHINI, S.; MAIOLINI, E.; BOLELLI, L.; FERR, E. N. **A**nalytical and Bioanalytical Chemistry, 2013, v. 403, n. 2-3, p. 555-571.
13. GONZÁLEZ, J. L.; PELL, A.; LÓPEZ-MESAS, M.; VALIENTE, M. Science of The Total Environment,2017, v. 603-604, p. 109-117.
14. LEE, K. Y. Environmental Pollution, 2008, v.154, n.2, p. 320-329.
15. LOPES, Verushka S. M. Avaliação preliminar da contaminação por BTEX, em água subterrânea de poços tubulares, no município de NATAL/RN. Dissertação de Mestrado em Ciências e Engenharia do Petróleo, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, UFRN. Natal, 2011.
16. MENDES, R. **R**evista da Associação Médica do Brasil, 1993, v. 39, p. 249-256.
17. MORAES, F. C.; CABRAL, M. F.;

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

MASCARO, L. H.; Machado, S. A. S. Surface Science, 2011, v. 605, n. 3, p.435-440.

18. QIN, W.; LIU, X.; CHEN, H.; YANG, J. Analytical Methods, 2014, v. 6, n.1, p.5734-5740.
19. QIN, W.; LIU, X.; CHEN, H.;YANG, J. Analytical Methods, 2014, v. 6, n.1, p.5734-5740.
20. ROSOLINO, P. Utilização de espectrofotômetro de infravermelho portátil para a determinação quantitativa de compostos orgânicos voláteis (BTEX) em amostras de efluentes líquidos. 2012. 116p. Dissertação. Mestrado em Saúde Ambiental. Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2012.
21. SANTOS, D. P. Determinação eletroquímica de fenóis após processo de degradação de benzeno usando sensor à base de nanotubos de carbono-ftalocianina de cobalto. 2012. 101p. Dissertação. Mestrado em Química Analítica. Universidade de São Paulo, São Carlos. 2012.
22. SARAFRAZ-YAZDI, A., & VATANI, H. A. Química Nova, 2009, v. 32, n. 6, p. 1620-1634.
23. SARAFRAZ-YAZDI, A.; ROUNAGHI, G.; VATANI, H.; RAZAVIPANAH, I.; AMIRI, A. Microchimica Acta, 2015, v. 182, n. p.217–225.
24. SARAFRAZ-YAZDI, A.; VATANI, H. A. Journal of Chromatography A, 2013, v. 1300, p. 104-111.
25. SENTHIL KUMAR, M.; SIVASANKAR, V.; GOPALAKRISHNA, G.V.T. Arabian Journal of Chemistry, 2017, v.10, p.2523–2533.
26. SENTHIL KUMAR, M.; SIVASANKAR, V.; GOPALAKRISHNA, G.V.T. Arabian Journal of Chemistry, 2017, v.10, p.2523–2533.
27. SILVA. A. J. C. Tratamento eletroquímico de efluentes da indústria de petróleo. 2013. 77p. Dissertação. Mestrado em Ciências Naturais. Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, Mossoró. 2013.
28. SÝS, M.; PEKEC, B.; KALCHER, K.; VYTŘAS, K. International Journal of Electrochemical Science, 2013, v.8, p.9030-9040.
29. ZHANG, F.; WANG, X.; DONG, J.; QIN,N.; XU, J. Sensors and Actuators B Chemical, 2013, v. 186, p. 126-131, 2013.

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 1. *Quantidade de documentos de patentes recuperadas mediante buscas por palavras-chave e agrupamento destas nas principais bases de patentes*

Palavras –chave	**Número de Patentes Recuperadas**			
	INPI	**US-PTO**	**EPO**	**DERWENT**
Sensores ***and*** BTEX	26	-	-	-
Sensors ***and*** BTEX	-	1	1	3
Controle ***and*** BTEX ***and*** água	18	-	-	-
Control ***and*** BTEX ***and*** water ;	-	40	1	16
Controle ***and*** BTEX ***and*** solo	4	-	-	-
Control ***and*** BTEX ***and*** *soil*	-	16	0	3
Método ***and*** detecção ***and*** BTEX	21	-	-	-
Method ***and*** detection ***and*** BTEX	-	177	3	7
Detecção ***and*** método ***and*** BTEX	21	-	-	-
Detection ***and*** method ***and*** BTEX	-	2	0	0
Método ***and*** detecção ***and*** BTEX ***and*** água	3	-	-	-
Method ***and*** detection ***and*** BTEX ***and*** water	-	170	0	5
Detecção ***and*** BTEX ***and*** solo	1		-	-
Detection ***and*** BTEX ***and*** *soil*	-	15	0	1
Detecção ***and*** benzeno ***and*** xileno ***and*** tolueno ***and*** etilbenzeno	0	-	-	-
Detection ***and*** benzene ***and*** xylene ***and*** toluene ***and*** ethylbenzene	-	61	6	41
Método ***and*** benzeno ***and*** xileno ***and*** tolueno ***and*** etilbenzeno	0		-	-
Method ***and*** benzene ***and*** xylene ***and*** toluene ***and*** ethylbenzene	-	4283	99	876
TOTAL	94	4765	110	952

INPI - Instituto Nacional de Propriedade Industrial. EPO - *European Patent Office*. US-PTO - *United States Patent and Trademark Office*. Derwent -*Derwent Innovations Index*. **Fonte:** Autores (2018).

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 2. *Número de documentos recuperados, de acordo com a classificação internacional de patentes*

Classificação	**Número de patentes encontradas**		
	INPI	**EPO**	**US-PTO**
H01M 4/02	60 Concedidas 21 Depositadas	>10.000	0
G01N27 / 12	22 Concedida 17 Depositada	>10.000	1182
G06T 7/00	134 Concedidas 365 Depositadas	>10.000	8607
G01N 33/18	81 Concedidas 51 Depositadas	>10.000	0

Fonte: Autores (2018)

(2018) H01M 4/02 - Eletrodos compostos de material ativo ou compreendendo o mesmo.

G01N27 / 12 - Investigação ou análise de materiais pelo uso de meios elétricos, eletroquímicos.

G06T 7/00 - Análise de imagem, p. ex. de bit-mapped para não bit-mapped.

G01N 33/18 - Investigação ou análise de materiais por métodos específicos não abrangidos pelos grupos.

INPI - Instituto Nacional de Propriedade Industrial. EPO - *European Patent Office*.

US-PTO - *United States Patent and Trademark Office*.

Tabela 3. *Quantidade de trabalhos científicos por palavras-chave e agrupamentos destas, encontrados nos principais bancos de artigos*

Palavras-chaves	**Quantidade de artigos científicos**		
	Google Acadêmico	***Science Direct***	**Periódicos Capes**
Sensores ***and*** BTEX (hidrocarbonetos)	4250	203	10327
Controle ***and*** BTEX **and** água	13500	1214	2218
Controle ***and*** BTEX **and** solo	9980	596	1346
Método **and** detecção ***and*** BTEX	11700	945	1717
Detecção **and** métodos ***and*** BTEX	17600	23	1717
Método **and** detecção ***and*** BTEX **and** água	11500	819	2
Detecção ***and*** BTEX **and** solo	8710	405	1010
Detecção **and** benzeno **and** xileno **and** tolueno **and** etilbenzeno	16900	1140	1824
Método **and** benzeno **and** xileno **and** tolueno **and** etilbenzeno	17400	2266	2946
Total	**111540**	**7611**	**40322**

Fonte: Autores (2018)

© 2018. Porto Alegre, RS. Brasil

ANÁLISE DA VIABILIDADE TÉCNICA DO USO DA *CARAPA GUIANENSIS* (ÓLEO DA ANDIROBA) COMO FLUIDO DE CORTE NO PROCESSO DE TORNEAMENTO DE AÇOS ABNT 1020 E 1045

A TECHNICAL VIABILITY ANALYISIS OF USE OF THE *CARAPA GUIANENSIS* OIL (ANDIROBA OIL) AS CUTTING FLUID IN THE TURNING PROCESS OF THE ABNT 1020 AND 1045 STEEL GRADES

BOTELHO, Tamires Isabela Mesquita[1*]; MONTEIRO JUNIOR, Paulo Lourenço[1]; DA SILVA, Maria Adrina Paixão de Sousa[1]; DA SILVA, Rosimar Batista[2]; DO NASCIMENTO, Alexandre Saldanha[1]

[1] Universidade Federal do Pará, Faculdade de Engenharia Mecânica, Campus Belém, , Av. Perimetral, 2651, cep 66077-830, Belém – PA, Brasil
(fone: +55 91 3257 6457)

[2] Universidade Federal de Uberlândia, Faculdade de Engenharia Mecânica, Campus Santa Mônica, Av. João Naves de Avila, 2121 - Bloco 1-M, cep 38400-100, Uberlândia – MG, Brasil
(fone: +55 34 3239-4014)

** Autor correspondente*
e-mail: tamiresisabela@yahoo.com.br

Received 22 October 2018; received in revised form 07 November 2018; accepted 10 November 2018

RESUMO

Em usinagem, o correto fluido de corte reflete em benefícios que vão desde a melhoria da qualidade da peça ao custo de fabricação. O fluido selecionado deve ainda ter características que não agrida nem o operador e nem o meio ambiente. Neste sentido, este trabalho experimental avalia os efeitos do óleo vegetal extraído da *Carapa Guianensis* no processo de torneamento cilíndrico externo dos aços ABNT 1020 e 1045. Foram utilizadas ferramentas de aço rápido, que foram testadas em condições de desbaste e acabamento. Além da caracterização físico-química (viscosidade dinâmica a 40°C e pH) do fluido, foram avaliados o comportamento do cavaco, acabamento superficial da peça e temperatura de corte das peças usinadas. Como resultado, observou-se que o fluido testado resultou em viscosidade dinâmica a 40°C de 0,11 Pa.s e pH 2,3. Os valores de rugosidade encontrados situaram-se bem próximos aqueles normalmente relatados na literatura para o torneamento de acabamento para os aços ABNT 1020 e 1045. Observou-se ainda que ao usinar o aço ABNT 1020 na condição de acabamento as temperaturas para a peça foram maiores que os demais. Dessa forma, o fluido à base da andiroba pela aplicação convencional demonstrou uma alternativa viável no processo de torneamento dos aços ABNT 1020 e 1045, pelo fato de ser biodegradável e redução dos fluidos de corte derivados do petróleo.

Palavras-chave: usinagem, fluido de corte, óleos vegetais, *carapa guianensis*, temperatura da peça.

ABSTRACT

In machining, the proper selection of cutting fluids result in benefits that vary from superior quality of the machined component to manufacturing cost. In addition, the must have characteristics that do not harm the user and the environment. In this sense, this work evaluates the effects of the vegetable base oil extracted from Carapa Guianensis in the external cylindrical turning process of the ABNT 1020 and 1045 steel grades. High-speed steel tools were tested under roughing and finishing conditions. In addition to the physico-chemical characterization (dynamic viscosity at 40 °C and pH) of fluid, the chip form, surface finish, tool wear and workpiece temperature were evaluated. After characterization of oil, there were recorded in the dynamic viscosity at 40 °C of 0.11 Pa.s and pH of 2.3. The average roughness recorded were very close to those usually reported in the literature for finishing turning for ABNT 1020 and 1045 steels. It was also observed that the workpiece temperatures were higher when machining the ABNT 1020 steel grade under finishing condition than

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

for other steel and conditions tested. Based on these findings, the andiroba oil delivered the conventional coolant technique demonstrated to be a technically viable alternative to conventional coolants in the turning process of ABNT 1020 and 1045 steels, because of it biodegradability characteristics and to reduce petroleum-based cutting fluids in the machining processes.

Keywords: machining, cutting fluid, vegetable oils, *carapa guianensis*, workpiece temperature.

INTRODUÇÃO

A usinagem dos metais ocupa uma posição de grande destaque dentro da indústria metal-mecânica e está presente em grande parte da cadeia produtiva de fabricação de componentes nas mais diversas áreas (Rios, 2005). E nos dias atuais, a abordagem do processo de usinagem leva em conta não só a seleção de parâmetros de cortes ideais, aliado ao menor custo de produção sem perda de qualidade da peça, mas também com foco na adequação e respeito às normas ambientais e saúde do operador (Encinar *et. al.,* 2002).

Durante o processo de corte dos metais é gerado uma grande quantidade de calor, devido à energia necessária para deformação do material e à energia decorrente do atrito ferramenta- peça e cavaco-ferramenta (Diniz *et al.*, 2010). Os fluidos de corte atuam refrigerando e lubrificando a interface peça-ferramenta-cavaco, como também diminuindo as altas temperaturas geradas na zona de corte. Mas o custo do fluido pode representar até 17% do custo total de fabricação. Desta forma, é preciso selecionar corretamente um fluido e sua forma de aplicação a fim de alcançar os benefícios como redução dos custos de fabricação ou aumento da taxa de produção (Machado *et al.*, 2011), e sempre que possível observar a melhor relação benefício-custo possível.

Dentre os diversos tipos de fluidos de corte existentes, os fluidos de corte emulsionáveis, principalmente aqueles de base mineral (derivados do petróleo), ainda são os mais utilizados nas indústrias metal-mecânica devido ao custo. Esses fluidos, dependendo da sua concentração, apresentam alto poder refrigerante, fundamental para usinagem com alta velocidade de corte. Estudos realizados comparam fluidos sintéticos, semi-sintético, emulsionáveis e concluem que aqueles que utilizam emulsão são mais favoráveis que os demais para a propagação de microrganismos (Moore *et al.*, 2000; Veillete *et al.*, 2004). Santos e Sales (2007) relatam que os fluidos de corte possuem os nutrientes básicos (carbono, nitrogênio, enxofre e outros) para o crescimento de microrganismos. Nas operações de usinagem para a utilização de fluidos de corte emulsionáveis, faz-se a necessidade de diluir em água, para haver um balanço de refrigeração e lubrificação e normalmente a água utilizada é imprópria com a concentração de 3-15%, dependendo da aplicação. Segundo Beckt *et al.* (2005), esse processo de diluição torna o fluido propício ao desenvolvimento de bactérias e fungos, principais contaminantes da emulsão. A contaminação ocorre também através de microrganismos aderidos à poeira, partículas de aerossóis e com o próprio manuseio dos operadores por meio das bactérias presentes na pele e na mucosa, bem como a contaminação das peças e superfícies de trabalho (Passman e Rossmoore, 2010). Em grandes empresas a contaminação do fluido de corte pode levar a perda de produtividade, gastos extras com a troca do fluido de corte, problemas com a qualidade do produto acabado e reclamações dos trabalhadores por problemas de saúde, sem contar com o desgaste causando grandes problemas ambientais (Runger e Duarte, 1990).

Existe uma demanda crescente para o desenvolvimento de fluidos de corte ambientalmente amigáveis tendo como base diversos óleos vegetais, por se tratarem de matrizes obtidas de fonte renovável. A maioria dos trabalhos publicados mencionam os óleos de soja, milho e de mamona como possíveis candidatos (Grosse *et al.*, 2016) . Há um enorme potencial para a utilização de óleos vegetais como fluidos de corte no setor de fabricação (Shashidhara e Jayaram, 2010), no entanto, poucos estudos referentes aos comportamentos reológicos e tribológicos de óleos vegetais têm sido relatados na literatura específica (Gonçalves, 2013)

Os óleos vegetais são de particular interesse para o Brasil, onde existe uma grande diversidade de óleos vegetais, uma vez que o país é um dos maiores produtores mundiais desse tipo de óleo (Neves *et al*., 2013; Araujo *et al*.; 2013). Dentre os óleos vegetais, destaca-se a *carapa guianensis*, mais conhecida no Brasil

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

como óleo da andiroba que pode ser um potencial fluido para operação de usinagem. De coloração amarelo-claro, se altera facilmente após a extração. Sua característica físico-química também é modificada com relação ao índice de acidez: quando exposta ao sol, o índice de acidez pode ser intensificado, podendo alcançar cerca de 90%. A andiroba é uma árvore cujo óleo, extraído da semente, possui propriedades medicinais com potencial comercial e se destaca entre os óleos tradicionais no norte do país. Este óleo oferece ainda outras possibilidades de agregação de valor ao seu produto básico como sabonetes, xampus, velas e tochas repelentes (Boufleuer, 2004; Silva, 2011).

O estudo de materiais voltado à sua facilidade de utilização em processos de usinagem é expresso por uma grandeza chamada usinabilidade. Esta característica expressa à facilidade de usinar um material de acordo com determinado critério, mesmo não sendo uma prioridade inerente ao material. Os critérios mais usados são a vida da ferramenta, as forças de corte necessárias na usinagem e a rugosidade das peças produzidas por este processo (Ferraresi, 2011; Stemmer, 2005).

Na literatura Oliveira e Alves (2016) e Pusavec *et al.(*2010) apresentam vários estudos que descrevem os impactos negativos que os fluidos de corte contaminados podem causar ao meio ambiente e na saúde do operador. Assim, o principal objetivo desse trabalho foi analisar a viabilidade técnica do uso do óleo da *carapa guianensis* como fluido de corte no torneamento os aços ABNT 1020 e 1045 por meio dos parâmetros viscosidade dinâmica a 40°C, pH diluído, forma do cavaco, acabamento superficial da peça e temperatura das peças usinadas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi empregada uma metodologia de ensaios utilizando um torno mecânico convencional, modelo NZ VS, do fabricante Nardini com processo de torneamento cilíndrico externo. Nos dias atuais ainda é comum realizar usinagem de peças em máquinas convencionais devido à versatilidade, baixo custo e praticidade comparadas com aquelas que são equipadas com comando numérico computadorizado (CNC). Também se empregam ferramentas de aço rápido (HSS) devido ao menor custo, inclusive faz-se necessária à etapa de reafiação. Contudo, sabe-se que estas ferramentas são menos resistentes ao calor durante a usinagem e apresentam desgaste acelerado quando comparadas as ferramentas de metal duro, o que limitam o seu emprego em situações com elevadas velocidades de corte. As ferramentas utilizadas no experimento foram de aço rápido (HSS) com 12% Co.

Os materiais das peças testadas no trabalho foram no total 4 (quatro) barras cilíndricas de aço ABNT 1020 e 1045, 02 (duas) para cada aço com dimensões iniciais iguais a: 23 mm de diâmetros por 38 mm comprimento, todos com um furo no centro nas extremidades, representados na figura 1.



Figura 1. *Corpo-de-prova dos aços ABNT 1020 e 1045*

A composição química de cada material e dureza são apresentadas nas tabelas 1 e 2, respectivamente.

Tabela 1. *Valores da composição química dos aços*

Aço ABNT	C%	Mn%	Si%	P% (max)	S% (max)
1020	0,22	0,44	0,21	0,04	0,05
1045	0,44	0,71	0,20	0,04	0,05

Tabela 2. *Dureza dos aços*

Aço ABNT	HB
1020	127 ± 0,5
1045	174 ± 0,5

Os parâmetros de entrada utilizados neste trabalho foram: velocidade de corte (Vc), avanço (f) e profundidade (ap) e os valores de cada um são apresentados na Tabela 3. O fluido de corte, óleo da *carapa guianensis*, foi coletado de forma artesanal no município de Igarapé-

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Mirim (PA), sendo este material rejeito do processo de fabricação artesanal da região. O fluido foi aplicado na zona de corte via a técnica convencional por inundação (vazão de 630,93 ml/s) e na direção (sobrecabeça, como ilustrado na Figura 2).

A viscosidade dinâmica da *carapa guianensis* foi medida usando um viscosímetro do fabricante Hake à temperatura de 40°C, que foi mantida constante durante o experimento utilizando um cilindro coaxial modelo VT-550, segundo a norma ASTM D 2770-4. Já a análise do pH foi realizada com pHmetro portátil digital da marca HI221.

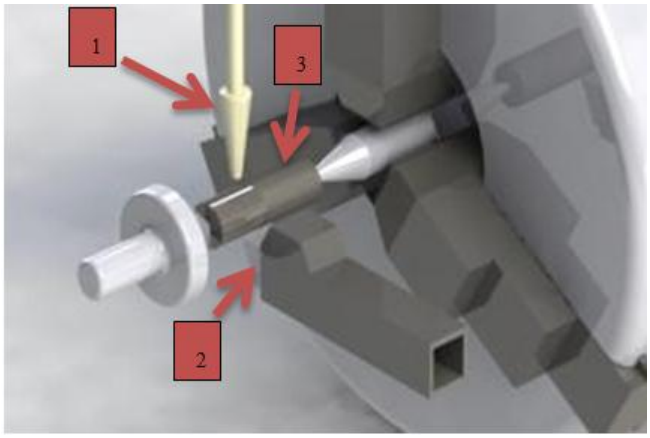


Figura 2. *Detalhe da montagem do sistema ferramenta-peça, com a seta 1 indicando o bocal, seta 2 a ferramenta de corte e a seta 3 a disposição da peça entre pontas*

O processo de torneamento se deu do inicio ao fim do percurso do corpo de prova, ou seja, um único passe. Sendo após a finalização de cada ensaio trocada a peça, ferramenta de corte e os parâmetros definidos na tabela 3. As variáveis de saída analisadas foram:

• Formas de Cavaco: Nos ensaios de usinagem, após o primeiro e o último passe da ferramenta da usinagem de cada corpo-de-prova foram coletados os cavacos resultantes, os quais foram analisados e classificados de acordo com a norma ISO 3685.

• Rugosidade: a obtenção da rugosidade média aritmética (Ra) foi realizada através de um rugosímetro portátil, com resolução 0,01 mm, modelo TR200 da marca Time. Foram adotados um cut-off de 0,8 mm e comprimento de amostragem 4 mm, de acordo com a norma NBR ISO 4287. Para todas as medições foram feitas quatro ao longo da seção longitudinal e em extremidades opostas e retirada uma média dos valores obtidos.

• Temperatura da peça: A técnica de medição empregada neste trabalho foi aquela proposta por Silva, *et.al.* na qual se utiliza uma termocâmera da marca FLIR que é, posicionada de maneira que os pontos de corte permanecessem direcionados na zona do corte, conforme mostra a Figura 3, a uma distância de 800 mm desta zona, menor que a distância de resolução máxima desta que é de 1000 mm. As aquisições dos dados foram feitas por meio da interface do computador com o software FLIR Tool® dos dados térmicos da termocâmera.

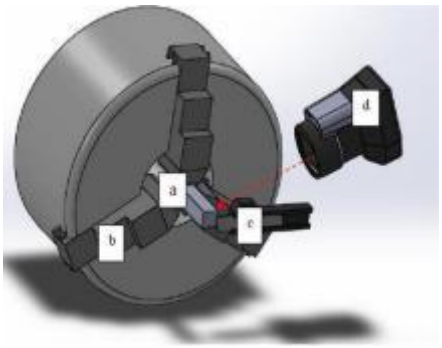


Figura 3. *Amostra (a) afixada na castanha do torno (b), a ferramenta de aço rápido (c), na posição de corte e o termômetro (d) posicionado para aquisição de dados térmicos*

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Viscosidade Dinâmica a 40°C e pH

Geralmente, as propriedades físicas e químicas dos fluidos de corte são modificadas com o tempo, devido ao longo período de uso, a forma inadequada de utilização e manutenção ou ainda pelas ações de microrganismos, podendo causar riscos nos ambientes de trabalho e naturais (quando são descartados). Sendo assim, é de grande importância o estudo da dinâmica dos fluidos nestes ambientes (Bhattacharya *et al.*, 2004; Helena *et al.*, 2001). Muniz (2008) relata que a estabilidade das emulsões de um fluido de corte pode ser afetada pela qualidade da água. Esta, portanto, devem estar isenta de impurezas, microrganismos e excesso de cloro.

A viscosidade deve ser suficientemente baixa, de modo a permitir uma fácil circulação do fluido e alta o suficiente para que se tenha uma boa aderência do fluido às superfícies da ferramenta (Souza, 2009), sendo que esta última favorece a função lubrificação e atua redu-zindo

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

o atrito na interface peça-ferramenta, o que implica em redução das forças de corte e manutenção da rugosidade em níveis mais baixos. Quanto maior a necessidade de lubrificação, maior a vantagem de utilização de fluidos de corte de base vegetal em relação às demais bases, independente da condição de corte empregada (Gonçalves, 2013). Contudo, segundo Silva (2000), quanto menos viscoso for o fluido de corte melhor será a operação de usinagem.

O valor de pH dos fluidos é um forte indicativo do nível de ataque das suas propriedades anticorrosívas, pois além do consumo de emulgadores e agentes anticorrosivos, as bactérias geram subprodutos ácidos, resultantes de seu metabolismo, reduzindo o pH da emulsão e a proteção anticorrosiva (Boufleuer, 2004). No presente estudo a análise de pH resultou uma média de 2,3. O pH é o principal indicador para avaliação do fluido (Marcelino, 2013). Para Runge e Duarte (1990) o valor satisfatório do pH de uma emulsão para o uso é acima de 8,7. Os autores Santos e Sales (2007), Lima (2012) e Takahashi (2012) citam que o valor 7,8 e 8,7, exige a adição de biocidas para controlar o grau de contaminação e correção de pH com agentes alcalinizantes. O valor do óleo da andiroba está abaixo do valor ideal de uma emulsão, pois é um óleo graxo de origem vegetal puro sem aditivos e encontra-se próximo dos valores encontrado nas literaturas de Melo da Silva *et al*.(2014) e Vasconcelos *et al*. (2008).

3.2. Formas do Cavaco

Na Figura 3 (a) a (d) são apresentadas as imagens obtidas dos cavacos gerados para os diferentes aços testados nas diferentes condições de corte investigadas. Quanto aos cavacos gerados e apresentados, observa-se que eles assumiram diferentes formas e tipos: forma tubular emaranhada Fig. 3(a) e longo Fig. 3(b). Na Fig3(c) em tubular curta e na Fig3(d) helicoidal longa.

Por se tratar de dois metais com diferentes teor de carbono e dureza, houve uma diferença de comportamento do cavaco, com uma mudança discreta de tipo tubular no aço ABNT 1020 para tipo helicoidal do aço ABNT 1045. Segundo Ferraresi (2011), a forma mais conveniente é a helicoidal, sendo o cavaco em lascas preferido em casos onde o cavaco deve ser removido pelo fluido de corte ou quando há pouco espaço disponível para o cavaco. Um cavaco longo, em forma de fita, além de se enrolar sobre a peça sendo usinada, danificando-a, pode atingir o operador, machucando-o seriamente, além de o cavaco longo ser muito mais difícil de manipular e requerer um volume muito maior para armazenamento que um cavaco curto com o mesmo peso (Diniz *et a.l*, 2010).

Amâncio *et al*. (2013) avaliaram as variáveis que interferem no processo de usinagem em um torno CNC utilizando o método de planejamento e experimento Taguchi onde citam que os ângulos de folga (25º, 15º e –5º) de ferramentas de aço rápido HSS são fatores que influenciam na forma dos cavacos, no caso do ângulo de posição ou folga, quanto maior este ângulo em relação ao cabo da ferramenta, maior será a largura do cavaco, provocando uma superfície de contato maior, isto solicita um esforço maior da ferramenta para retirada de cavaco. E o ângulo de inclinação quando for negativo, pode gerar um péssimo acabamento superficial da peça.

3.3. Rugosidade

Na Figura 4 são mostrados os valores parâmetro Ra (μm), obtidos dos corpos de prova para as condições de acabamento e desbaste dos aços ABNT 1020 e 1045.

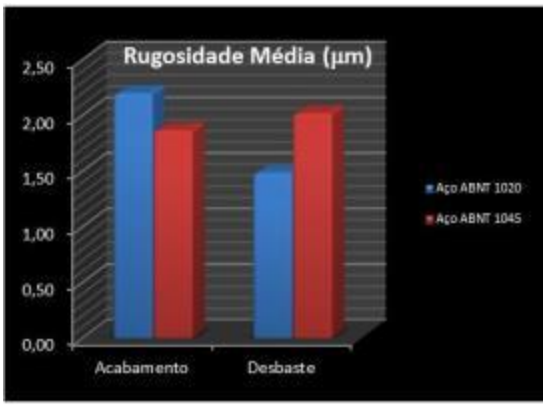


Figura 4. *Rugosidade média das peças em aços ABNT 1020 e 1045 condições de acabamento e desbaste*

Quanto aos valores de rugosidade, da Figura 4 observa-se que praticamente não há diferença nos valores ao usinar na condição de acabamento comparando os dois aços. Observa-se que para o aço ABNT 1045 obteve-se uma menor rugosidade, entretanto, para a condição de desbaste, o aço ABNT 1020 apresentou um decréscimo mais significativo, ou seja, um melhor acabamento superficial. Diversos estudos foram

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

feitos visando à otimização do torneamento em vários materiais e a sua influência sobre o acabamento superficial e o desgaste da ferramenta.

Um estudo da minimização do custo de usinagem por torneamento de aço ABNT 52100, utilizando-se a metodologia de superfície de resposta foi realizado por Mendes *et al*. (2007), considerando a vida da ferramenta e o acabamento superficial da peça. Seus resultados indicam que a minimização do custo é obtida com as maiores velocidades de corte utilizadas no seu experimento, com maiores taxas de remoção de material. Araújo *et al*. (2013) avaliaram o desempenho do óleo refinado vegetal de coco babaçu (*Orbignya Oleifera*) como fluido de corte, aplicado via técnica da mínima quantidade de fluido – MQF, com diferentes vazões, considerando os esforços de usinagem e o acabamento superficial, durante o processo de fresamento frontal do aço ABNT 1045, e relataram que a técnica MQF reduziu as forças de usinagem pela sua função lubrificante e o atrito na interface cavaco-ferramenta. Com isso, eles demonstraram que o óleo de coco babaçú resultou menores quando comparado ao fluido LB 2000 (fluido comercial) e menores quando comparado com a condição a seco (o mesmo não ocorreu com relação à rugosidade média).

3.4. Temperatura da Peça

Nas Figuras 5 e 6 são mostrados os valores de temperatura da peça, aço ABNT 1020 e aço ABNT 1045, respectivamente, nas diferentes condições de corte testadas.

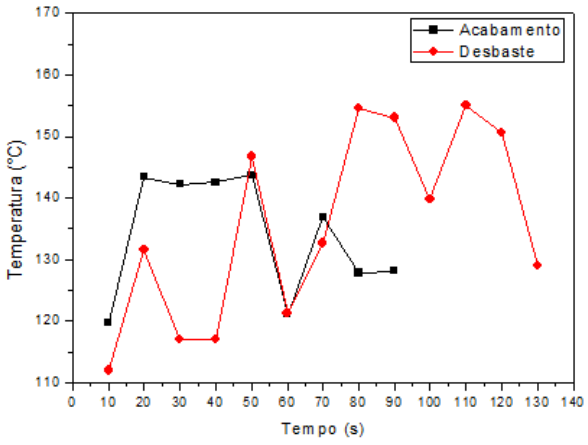


Figura 5. *Temperatura da peça com progressão da usinagem do aço ABNT 1020 em condições de acabamento e desbaste*

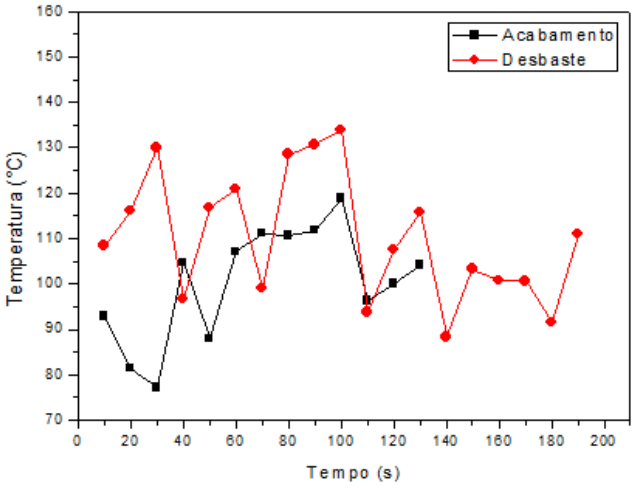


Figura 6. *Temperatura pelo tempo do aço ABNT 1045 em condições de acabamento e desbaste*

Em relação a temperatura da peça após a usinagem dos aços ABNT 1020 e 1045, observa-se que a usinar o aço ABNT 1020 os valores de temperatura foram maiores na condição de desbaste, comportamento este que se assemelhou para o aço ABNT 1045. Nas condições de desbaste, em ambos os aços, a aplicação com o óleo da andiroba proporcionou temperaturas relativamente altas dadas as dimensões dos corpos-de-prova usinados e os parâmetros adotados. Machado *et al*. (2011) relata que, o calor no plano de cisalhamento pode até ser benéfico para a usinagem, pois aumenta a temperatura nas zonas primárias e secundárias e diminui a resistência mecânica do material da peça para dar continuidade à deformação plástica (efeito de amolecimento). O calor gerado na zona secundária de cisalhamento tem maior influência sobre o desempenho da ferramenta e é praticamente fator limitante para a taxa de remoção de material. Em especial, por meio do aumento da velocidade de corte, o contato entre a superfície de folga da ferramenta e a peça (zona terciária) pode ocorrer no mesmo caso de ferramentas sem desgaste de flanco e, além disso, também pode contribuir para o aumento da temperatura da peça e da ferramenta. O óleo da andiroba atuou como lubrificante não sendo eficaz na redução da temperatura, ou seja, não atuando de forma a reduzir a área de contato na interface cavaco-ferramenta e fazendo com que o cavaco escoe com mais facilidade (Souza *et al*., 2010).

Suarez *et al.* (2009) informam que a temperatura de usinagem também influencia no

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

controle dimensional e no acabamento superficial da peça. O aumento da temperatura contribui ainda para reduzir as forças e a potência de usinagem. Sabe-se que a interface de contato entre a ferramenta e a peça trabalho no processo de usinagem na superfície de flanco está sujeita a pressões elevadas e consequentemente a altas temperaturas (Tönshoff, 2004). Durante o processo de torneamento, observou-se que houve várias oscilações de temperatura para todas as condições. Tais resultados já são conhecidos da literatura (Guimarães, 2014; Haddag e Nouari, 2013) e prováveis justificativas são que próximo ao final da área de corte uma menor quantidade de calor é dissipada e por conta do aumento progressivo do desgaste da ferramenta ao longo de cada ensaio (Silva e Wallbank, 1999).

CONCLUSÕES

Com base nos ensaios experimentais realizados pôde-se observar o comportamento do óleo da *carapa guianensis* como fluido de corte no processo de torneamento dos aços ABNT 1020 e 1045, nas condições de acabamento e desbaste concluindo que:

• O óleo da *carapa guianensis* apresentou valores para a análise da viscosidade dinâmica a 40°C de 0,11 Pa.s. Para a análise de pH o resultado adquirido foi de 2,3;

• Os valores de rugosidade média, Ra, foram inferiores a 2,2 µm, valores bem próximos daqueles relatados na literatura para aços comum ao carbono usinados com bits de HSS em condições semelhantes as investigadas nesta pesquisa;

• Na condição de acabamento para o aço ABNT 1020, a aplicação da andiroba proporcionou maiores temperaturas de peça.

Considerando que as características avaliadas se encontram de acordo com a literatura para fluidos de corte, a *carapa guianensis* se mostrou viável para utilização com essa finalidade.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Base Naval de Val-de-Cans (BNVC), pelo espaço experimental, ao Instituto Federal Pará (IFPA), pelas análises e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS

1. ASTM D (**2004**), 2770-04: *Standard practice for calculating viscosity index from kinematic Viscosity at 40 and 100*. Annual Book of ASTM Standards, ASTM International, West Con-shohocken.
2. Amâncio, D.A., Toledo, J.V., Ferreira, J.R.; Melo, M.L., Silva, G., Figueira, D.S.; Estudo e aprimoramento dos ângulos da geometria da ferramenta de aço rápido para o torneamento do nióbio em torno cnc utilizando o método de Taguchi. 7º Congresso Brasileiro de Engenharia de Fabricação, Penedo, Itatiaia, RJ, Brasil, 15-19 de abril de **2013**.
3. Araujo, A.S., Machado, A.R., Neves, T.E.S., Paiva., A.E., Rodrigues, J.R.P.; Esforços de usinagem e acabamento superficial no fresamento frontal do aço abnt 1045 com aplicação mqf do óleo refinado vegetal de coco babaçu. 7º Congresso brasileiro de engenharia de fabricação, Penedo, Rio de Janeiro, Brasil, 20-24 de maio de **2013**.
4. Becket, W.,Kallay, M., Sood, A., Zuo, Z., Milton, D. *Hypersensitivity pneumonit-is associated with environmental mycobacteria*. Environ Health Perspect. USA, v. 113, n° 6, p. 767-770, Fev. **2005**.
5. Bhattacharya, M., John, J., Raynor, P. C. *Emulsions containing vegetable oils for cutting fluid application. Colloids and Surfaces A: Physicochem*. Eng. Aspects, v. 237, p. 141-150. **2004.**
6. Boufleuer, N.T. Aspecto ecológico de andiroba (*carapa guianensis aublet., meliaceae*), como subsidio ao manejo e conservação. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Acre, Rio Branco, AC, Brasil, **2004**.
7. Diniz, A.E., Marcondes, F.C., Coppini N.L. Tecnologia da usinagem dos materiais 7.ed. São Paulo: Artliber, **2010**. 262p.
8. ENCINAR, J. M. et al. Biodiesel Fuels from Vegetable Oils: Trans esterification of Cynara cardunculus L. Oils with Ethanol. Energy & Fuels, v. 16, n. 2, p. 443-450. **2002**.
9. Ferraresi, D. Fundamentos da Usinagem dos Metais. 15 ed. São Paulo: Blucher,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Janeiro, **2011**. p 102.

10. Gonçalves, J.F.S. Proposição de método de desenvolvimento de fluido de corte de base vegetal. Tese de Doutorado, Instituto Tecnológico da Aeronáutica, São José dos Campos, São Paulo, Brasil, **2013**.
11. Grosse, T., Winter, M., Baron, S., Hoffmeister, H., Herrmann, C., Droder, K. *Honing with polymer based cutting fluids*. CIRP Journal of Manufacturing Science and Technology. p. 89-98, **2015**.
12. Guimarães, C. B. Análise da usinabilidade da liga Al-7%Si solidificada em um sistema unidirecional horizontal. Dissertação (mestrado), Universidade Federal do Pará, Pará, Brasil, **2014**.
13. Haddag, B., Nouari, M. *Tool wear and heat transfer analyses in dry machining based on multi-steps numerical modelling and experimental validation*. Wear. 302, 1158– 1170, **2013**.
14. SILVA, M. B., WALLBANK, J., Cutting temperature: prediction and measurement methods-a review. Journal of Materials Processing Technology. 88(1-3): 195-202, 1999
15. Helena W., Rolf. L., Theo, M. *Lubricant base fluids based on renewable raw materials their catalytic manufacture and modification.* Appl Catal A: Gen, v. 221, p. 429–42. **2001.**
16. ISO (**1993**) 3685: *Tool Life Testing with Single-Point Turning Tools*. ISO - International Organization for Standardization.
17. Lima, E.A. A vida pode aumentar, Dependendo da Formulação. Revista Máquinas e Metais. Editora aranda, Setembro. **2012**.
18. Machado, Á.R., Abrão, A.M., Coelho, R.T.; Da Silva, M.B. Teoria da Usinagem dos Materiais. 2.ed. São Paulo - SP: Editora Edgard Blucher, **2011**. 397p.
19. Marcelino, L.I. O. Fluido de corte mineral emulsionável: monitoramento, análise da degradabilidade, reformulação e estratégias de aumento de tempo de vida no processo de retificação. Dissertação (mestrado) - Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil, **2013.**
20. Melo da Silva, P.M, Da Silva, D.P, De Souza, E.C, Dos Silva, A.S, Muller, R.C.S Caracterização físico-químico de óleo de andiroba comercializado em Belém-Pa e em Bragança. 54° Congresso Brasileiro de Quimica. Natal, Rio Grande o Norte, Brasil, 3 – 7 de outubro de **2014**.
21. Mendes, R.R.A, Paiva, A.P, Ferreira, J.R., Estudo da minimização do custo de usinagem por torneamento do aço ABNT 52100 utilizando-se a metodologia de superfície de resposta. 4º Congresso Brasileiro de Engenharia de Fabricação. Águas de São Pedro, SP, Brasil, 15-18 de abril de **2007**.
22. Moore, J.S., Christensen, M., Wilson, R.W., Wallace Jr.,R.J., Zhang, Y., Nash, D.R., Shelton, B. *Mycobacterium Contamination of Metalworking Fluids: In-volvement of a Possible New Taxon of Rapidly Growing Mycobacteria*. AIHAJ. USA, v. 61, n°2, p. 205-13, abr. **2000**
23. Muniz, C.A.S. Novas formulações de fluido de corte: otimização, propriedades e recuperação de óleo usado. Tese de Doutorado. Universidade federal do Rio Grande do Norte, RN, Natal, Brasil, **2008**.
24. NBR ISO (**2002**) 4287: Especificações geométricas do produto (GPS) - Rugosidade: Metódo do perfil - Termos, definições e parâmetros da rugosidade. NBR - Norma Brasileira. Interna-tional. ISO - Organization for Standardization
25. Neves, T.E.S., Bacci, M., Araujo, A.S., Rodrigues, J.R.P., Paiva, A.E.; Efeito do óleo de canola refinado e das condições de corte na força de avanço na furação do aço abnt 1045. 7º Congresso brasileiro de engenharia de fabricação, Penedo, Rio de Janeiro, Brasil, 20-24 de maio de **2013**.
26. Oliveira, J.F.G.,ALVES, S.M. Adequações ambiental dos processos usinagem utilizando produção mais limpa como estratégia de gestão ambiental. <http://en.scienctificcommons.org/salete_martins_alves.> Acessado em 02 fevereiro 2016.
27. Passman, F.J., Rossmoore, H.W. *Reassensing the health risks associated with em-ployee exposure to MWF*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

microbes. Lubricat Engineering. USA, v. 58, n° 7, p. 30-38, mai. **2002**.

28. Pusavec, F., Krajnik, P., Kopac, J. *Transitioning to sustainable production – part I: application on machining technologies.* Journal of Cleaner Production, v. 18, p.174-184. **2010.**
29. Rios, M. R. S., Desempenho de emulsão leitosa e fluido sintético na furação de aço inoxi-dável. Revista Máquinas e Metais, São Paulo, Jul, **2005**.
30. Runge, P. R. F., Duarte, G. N. Lubrificantes nas Indústrias. Fluidos de Corte. Cotia: *Triboncept*, cap.4, p.71-172. **1990**.
31. Santos, S.C., Sales, W.F. Aspectos tribológicos da usinagem dos materiais. 1.ed.São Paulo: Artliber Editora, **2007**. 246p.
32. Shashidhara, Y.M., Jayaram, S.R. *Vegetable oils as a potential cutting fluid - an evolution.* Tribology International, v. 43 p. 1073-1081. **2010**.
33. Silva, J. V. M., *et al.*,; *Necking test methodology for solidific alloys in directional solidifi-cation devices*. XIV Congresso do SBPMAT, 1286-32, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 27/09–01/10/**2015**.
34. Silva, D.A.L., Soares, N.L., Fernandes, G.K.O., Santana M. F. S., Correa, A. P. P. Caracterização Fisico-Quimica de Óleos de Andiroba Extraidos nos Municipios do Acre e Amazonas. 51° Congresso Brasileira de Quimica. São Luiz, Maranhão, Brasil, 09-13 de outubro de **2011**.
35. Silva, E. J. Análise da influência dos tipos de fluido de corte e rebolo na retificação do aço SAE HVN-3. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de São Paulo, Bauru, SP, Brasil, **2000.**
36. Sousa, J.A., Aguiar, F.M., Sousa, M.N., Mundim, P.O., Cardoso, R.N., Machado, A.R. Investigação Experimental da Temperatura de Usinagem no Corte Ortogonal de Alumínio. VI Congresso Nacional de Engenharia Mecânica, Campo Grande, Pernambuco, Brasil, 18-21 de Agosto de **2010**.
37. Souza, J. Avaliação de fluidos de corte de base vegetal na furação de ferro fundido vermicular. Dissertação (mestrado) - Instituto Tecnológico da Aeronáutica, São Paulo, SP, Brasil, **2009.**
38. Stemmer, C.E. Ferramentas de Corte I. Editora da UFSC, 6ª Edição, Florianópolis, **2005**.
39. Suarez, M. P., Costa, E.S., Machado, A.R., Abrão, A.M., Precisão Dimensional em Canais Usinados na Liga de Alumínio 7075 – T7. V Congresso Brasileiro de Engenharia de Fabricação, Belo Horizonte, MG, Anais em CD Rom, Artigo: 011072262, 14-17 de Abril de **2009**.
40. Takahashi, D.F. Nova metodologia para otimizar biocidas em fluido de corte. Revista Máquinas e Metais, junho. **2012.**
41. Tönshoff, T., Ben Amor, R., Pereira, A. A., Boehs L. Análise da integridade da superfície de uma ferramenta de metal duro. III Congresso Nacional de Engenharia Mecânica, Belém, PA, Brasil, 10-13 de agosto de **2004**.
42. Vasconcelos, M.A.M., Mattietto, R.A., Gongalvez, A.C.S., Oliveira, P.S., Moreira, P.I.O., Alves, S.M., Moreira, D.K.T., Figueiredo, J.G., Dantas, H.A. Avaliação do processo de extração e caracterização do óleo e sementes de andiro-ba (*Carapa guianensis Aublet*). In: Conferência do subprograma de Ciência e Tecnologia, PPG7, Belém, **2008**.
43. Veillete, M., Thorne, P.S., Gordon, T.;Duchaine, C. *Six Month Tracking of Microbial Ghowth in a Metalworking Fluid After Sytem Cleaning and Recharging. Ann Occup Hyg*. Canadá, v. 48, n° 6, p. 541-546, Agosto. **2004**.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 3. *Resumo dos parâmetros operacionais utilizados no ensaio de torneamento nas condições de desbaste e acabamento dos aços ABNT 1020 e 1045*

Aço ABNT	Condição				
	Desbaste				
	Ângulo de folga (αo)	Ângulo de saída (γo)	Profundidade de corte (mm)	Vc (m/min)	f (mm/ver)
1020	20°	44°	0,5	345	0,053
1045	20°	44°	0,5	206	0,053
	Acabamento				
1020	2°	46°	0,5	409	0,053
1045	2°	46°	0,5	298	0,053

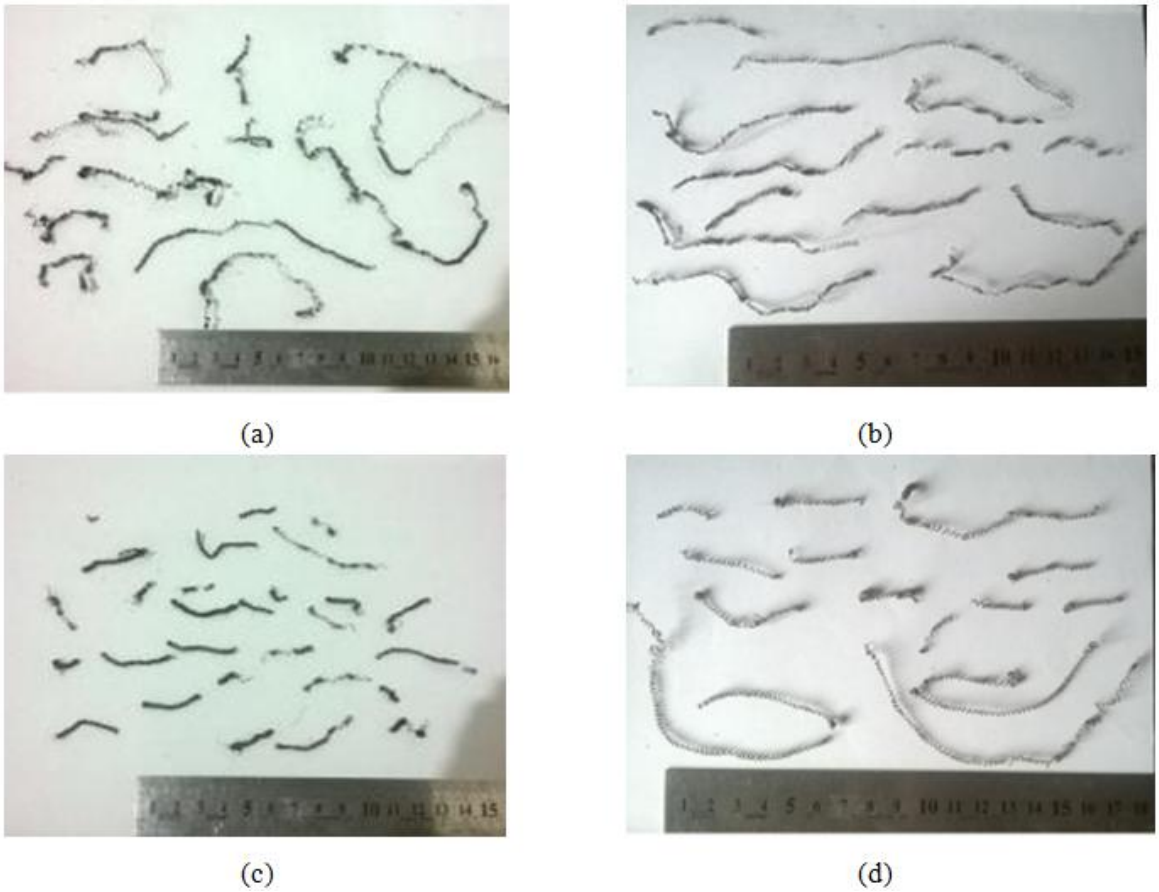


Figura 3. *Cavaco gerado no torneamento, (a) aço ABNT 1020 – acabamento, (b) aço ABNT 1045 – acabamento, (c) aço ABNT 1020 – desbaste e (d) aço ABNT 1045– desbaste*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INVESTIGANDO ALGUNS DOS PARÂMETROS DO RIO KURA ("MTKVARI") EM DOIS PAÍSES VIZINHOS - GEÓRGIA E TURQUIA, EM TERMOS DE QUÍMICA AMBIENTAL

RESEARCHING SOME OF THE PARAMETERS OF KURA ("MTKVARI") RIVER IN TWO NEIGHBOURING COUNTRIES – GEORGIA AND TURKEY, IN TERMS OF ENVIRONMENTAL CHEMISTRY

მდინარე „მტკვრის" ზოგიერთი პარამეტრის კვლევა გარემოს ქიმიის თვალსაზრისით ორ მეზობელ ქვეყანაში- საქართველოსა და თურქეთში

KUPATADZE,Ketevan[1*]; KIZILÖZ , Burak[2]

[1] Ilia State University, Georgia, Tbilisi
Kakutsa Cholokashvili Ave 3/5. Tbilisi 0162, Georgia
(phone: +955 599 290905)

[2]Kocaeli Great Municipality, Water and Sewerage Administration, Turkey, Kocaeli
Guzeller Neighbourhood, Şehit Mevlüt Duru Road, Building No: 10, Gebze (District) / Kocaeli

** Corresponding author*
e-mail: Ketevan_kupatadze@iliauni.edu.ge

Received 2 October 2018; received in revised form 10 November 2018; accepted 12 November 2018

RESUMO

O artigo examina alguns dos indicadores do Rio Mtkvari em termos de química ambiental. O estudo abrange o período 2016-2017 completo e o primeiro semestre de 2018 na Geórgia e na Turquia. Em particular, os dados foram coletados a partir de pontos de amostragem em Tbilisi e Karsi. No contexto da Geórgia, para nós, a situação existente em Tbilisi foi muito mais interessante, pois a contaminação por fatores antrópicos adicionais está aumentando aqui. Além disso, o peixe capturado em Mtkvari, em Tbilisi, é usado como alimento e para venda pela população local. Respectivamente, a condição do rio afeta a saúde da população. Mktvari é um rio comum para dois países vizinhos (também flui no terceiro país, no entanto, limitamo-nos apenas à Turquia e à Geórgia), pelo que o seu estudo ambiental é considerado crucial. Parâmetros químicos foram definidos no local. Outros parâmetros foram determinados no laboratório. O transporte de amostras foi realizado através da metodologia da International Standard Organization (ISO). Os resultados obtidos indicam contaminação moderada.

Palavras-chave: *Condição do Rio Mtkvari, química ambiental, poluentes fluviais*.

ABSTRACT

The article examines some of the indicators of Mtkvari River in terms of environmental chemistry. The study covers full 2016-2017 and the first half of 2018 in Georgia and Turkey. In particular, the data were collected from sampling points in Tbilisi and Karsi. In the context of Georgia, for us, the existing situation in Tbilisi was far more interesting, as contamination by additional anthropogenic factors is getting increased here. In addition to this, the fish caught in Mtkvari in Tbilisi is used as food and for sale by the local population. Respectively, the river condition affects the health of the population. Mktvari is a common river to two neighbor countries (it flows in the third country as well, however, we limited ourselves to Turkey and Georgia only), therefore its environmental study is deemed to be crucial. Chemical parameters were defined on site. Other parameters were determined in the lab. Transportation of samples was conducted through the International Standard Organization (ISO) methodology. The obtained results showed moderate contamination.

Keywords: *Condition of Mtkvari River, environmental chemistry, river pollutants.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

რეზიუმე

სტატიაში გამოკვლეულია მდინარე „მტკვრის“ ზოგიერთი მაჩვენებელი გარემოს ქიმიის ჭრილში. კვლევა მოიცავს სრულად 2016-2017 წლებს და 2018 წლის პირველ ნახევარს, თურქეთსა და საქართველოში. კერძოდ, მონაცემები აღებულია ყარსში და თბილისის წერტილებში. საქართველოში, ჩვენთვის, სწორედ თბილისში არსებული სიტუაცია იყო საინტერესო, რადგან აქ დამატებითი ანთროპოგენური ფაქტორებით დაბინძურება მატულობს. გარდა ამისა, თბილისში მტკვარში დაჭერილ თევზს მოსახლეობა საკვებადაც იყენებს და ყიდის კიდეც. შესაბამისად, მდინარის მდგომარეობა მოსახლეობის ჯანმრთელობაზეც ახდენს გავლენას. მდინარე „მტკვარი“ ორი მეზობელი ქვეყნისთვის საერთოა (მესამე მეზობელ ქვეყანაშიც, აზერბაიჯანშიც მიედინება, თუმცა ამჯერად მხოლოდ თურქეთით და საქართველოთი შემოვიფარგლეთ) და მისი ეკოლოგიური კვლევა მნიშვნელოვანია. ქიმიური პარამეტრების ნაწილის განსაზღვრა ხდებოდა ადგილზე. სხვა პარამეტრები ლაბორატორიაში ისაზღვრებოდა. სინჯების ტრანსპორტირება (ISO) მეთოდოლოგიით ხდებოდა. მიღებულმა შედეგებმა ზომიერი დაბინძურება დააფიქსირა.

საკვანძო სიტყვები: მდინარე „მტკვრის“ მდომარეობა; გარემოს ქიმია; მდინარის დამაბინძურებლები, მდინარის წყლის ხარისხი.

INTRODUCTION

Kura - the largest river of the South Caucasus, belonging to Caspian Sea basin, originates in Turkey, east slope of the mountain Kizil-Gyadik, at the height of 2742 m. above sea level. Passing through the territory of Georgia, it flows into the Caspian Sea in Azerbaijan. The river Kura basin includes the Great Caucasian Ridge, Armenian upland region and intermountain tectonic depression. The river basin covers the part of the territory in Turkey, Georgia, part of the territory in Iran, most of the Azerbaijanian territory and the whole territory of Armenia. The total length of the river Kura is 1364 km, including 185 km in Turkey, 390 km in Georgia and 789 km in Azerbaijan [1]. The natural water flow of the river Kura in Turkey (up to Georgian border) makes average 1,04 km^3/year (5,3% of total water flow). During many years water flow in Georgia, near Tbilisi, makes 203 m^3/sec or 6,39 km^3/year.

The name Kura is related to the name of Cyrus the Great, emperor of Persia, The Georgian name of Kura is *Mt'k'vari* [2] It rises in northeastern Turkey in a small valley in the Kars Upland of the Lesser Caucasus. It flows (see Figure 1) west, then north and east past Ardahan, and crosses into Georgia. It arcs to the northwest, then into a canyon near Akhaltsikhe where it starts to run northeast in a gorge for about 75 kilometers (47 mi), spilling out of the mountains near Khashuri. It then arcs east and starts to flow east-southeast for about 120 kilometers (75 mi), past Gori, then near Mtskheta, flows south through a short canyon and along the west side of Tbilisi, the largest city in the region. The river flows steeply southeast past Rustavi and turns eastward at the confluence with the Khaki River, crossing the Georgia-Azerbaijan line and flowing across grasslands into Shemkir reservoir and then Yenikend reservoir [3].



Figure 1. *The river Kura and its borders*

The ecological condition of the Mtkvari River is very important, having an international significance, as mentioned above. It is being used in industry, agriculture and for energy purposes. In addition, the population actively fishes in this river, both for consumption and sale. Respectively, the pollution level of the Mtkvari river in terms of environmental chemistry is extremely important. The reasons of pollution are

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

diverse but mainly anthropogenic. Pollution is conditioned by anthropogenic factors (especially in deposit surrounding areas), agricultural sector, household chemistry, wastewater, hospital waste and activities of municipal enterprises. There are few wastewater treatment plants functioning in only several places of Georgia. In that respect, the situation is much better in Turkey, operating not only conventional treatment systems but natural ones as well [4,5].

EXPERIMENTAL SECTION

In Turkey, the Mtkvari River samples were analyzed in the lab of State Water Administration Kars regional offices. The research period covered full 2016-2017 and the first half of 2018, according to seasons (Table 1).

The Mtkvari River sampling in Tbilisi city was conducted at two sampling points: Vakhushti Bridge, Metekhi Bridge. The samples were taken in 2016-2017 and in the first half of 2018, according to all the four seasons. The samples were analyzed through analytical chemistry methods in Ilia State University. However, part of the data reviewed by the article was retrieved from official data of the National Environmental Agency [6]. More specifically, heavy metal concentrations were extracted from the data of the National Environmental Agency. Ammonium nitrogen, general water hardness according to calcium, metal discovery reactions and the amount of aluminum sulfate were determined in Ilia State University. The data on Georgia, particularly on Tbilisi are reflected in Table 2.

RESEARCH METHODS

In the Kars research center, pH, BOD, the temperature was measured directly during the sampling. Other used measurement methods are under Turkish Standards Institution (TSE) [7].

In Georgian part of the research, pH, BOD, the temperature was measured directly during the sampling. The analysis for defining cations, anions and water hardness were conducted in Ilia State University. Their protocols are based on analytical chemistry method, mainly in terms of quality (Colorimetric) and quantity (Titrimetric) [8,9]. The existence of heavy metals was established through discovery reactions, and the existing amount was directly taken from the environmental agency website, where heavy metals in water samples were determined using inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) on the basis of ISO 11885: 2007 standard [10].

RESULTS AND DISCUSSION:

In the Turkish part, according to the samples analyzed in Kars, during the course of three research years, BOD amount was within the norms, indicating a healthy microflora in the water. Maximum mineralization was observed in November-December of 2016. It was also reported in early winter of 2017. Maximum mineralization during the first half of 2018 falls on the month of June.

Ammonium (NH^{4+}) is an ionized form of ammonia (NH_3) and is mainly generated during high water acidity. In other words, during the low level of pH, more molecules of ammonia transform to ammonium ions and on the contrary, during a high level of pH, the quantity of ammonia increases. The increased amount of ammonium ion may be toxic to organisms living in the river. BOD will also increase respectively. That's why it is so crucial to measure ammonium nitrogen. Amount of ammonium nitrogen slightly exceeds the maximum permissible level. Maximum amount was captured in November 2016, in August of 2017 and in June of 2018. As for the analyzed metals, they range within the maximum permissible levels. There was a slight increase in the amount of copper and manganese in August of 2016 and in June of 2017. The rest of the metals examined were within the norms, there was no evidence of the most dangerous metals– zinc, cadmium, and mercury. These metals are recognized by UN as the most dangerous metals and a special threat to flora and fauna in water, and therefore to a human [11,12].

In Tbilisi, maximum mineralization of Mtkvari River at *Vakhushti Bridge* was observed in December of 2016. The concentration of ammonium nitrogen in most of the samples exceeded the maximum permissible limit. Maximum value 1.213mgn/l was reported in November. It is important to define the concentration of heavy metals. Their existence, first of all, leads to the intoxication of organisms and fish living in the river that can be reflected on human health as well, bearing in mind that the fish caught in the river is used as food and for sale by the population.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Heavy metals can get in the river as a result of industrial activities. As for the aluminum, it is included in the ingredients of low price shampoos, shower gels, and consequently, gets in surface water through the wastewater. Amount of certain metals was within the norms, however, Ca exceeded the norm 1.9 times. There was also a high volume of copper (compared to the limits specified in the resolution of Government of Georgia). Out of sulfates, the noteworthy is aluminum sulfate, which from the so-called house chemistry gets in wastewater and ultimately in the river. Its volume as per the resolution of the Georgian government [13] was within the norms.

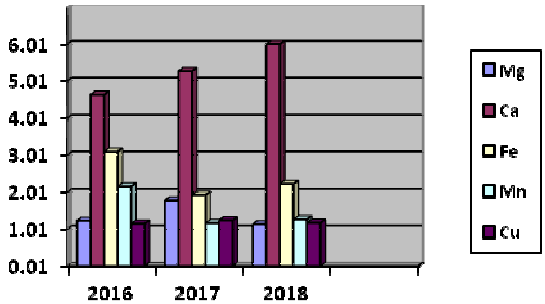
BOD indicates the amount of oxygen dissolved in the river [14], conditioning the balance between the river, vegetation, and animals living in it, i.e. ecosystem. According to the results, the BOD amount was satisfactory. Maximum mineralization in the samples taken from the same place was observed in September and July of 2017 and 2018, 461.37 and 527.42, thus, July indicator was slightly above the limit.

It is important to define the concentration of heavy metals. The increased amount of copper was also observed (compared to the norms specified in the resolution of the Government of Georgia). From sulfates, aluminum sulfate should be noted, getting into wastewater from the so-called household chemistry, and consequently ending up in the Mktvari River. Its amount was within norms according to the resolution of Georgian Government.

Hereof, the indicator of July 2018 was slightly above the limit. The amount of ammonium nitrogen was less, compared to 2016. BOD amount was satisfactory. The amount of aluminum sulfates was increased in 2017, while the amount above the maximum limit was observed in March. In 2018 this value is within the norms, while it is steal increased in spring. Amount of other defined metals are within the norms. However, there is a slight increase in copper (compared to the norms specified in the resolution of the Georgian Government. Monitoring of metals, especially the heavy ones, is extremely important, as, in addition to already mentioned anthropogenic factors, they can get into water from the air as well. Air pollution in Georgia, especially in recent years, has acceded the norms (http://nea.gov.ge/ge/home/).

In 2016, the maximum value of mineralization at **Metekhi Bridge** - 420.7 mg / m was recorded in December. The maximum value of ammonium nitrogen 0.74 mg N/L was also observed in December. Mineralization is maximum in summer and autumn; it comparatively decreases in winter and spring, which can be due to frequent rainfall. The Mtkvari River belongs to a group of polluted rivers, which is attributable to anthropogenic factors. As for the metals, the amount of calcium was increased in this area as well, the concentration of other metals varied within the norms. In the case of copper, an increase was still observed. BOD amount is satisfactory. The amount of aluminum sulfate is within the norms and slightly differs from those in the samples taken from Vakhushti Bridge. Maximum mineralization in samples of 2017 and 2018 was recorded in June and July (322.4 and 447.2) however all values varied within the norms. Neither the amount of ammonium nitrogen was substantially changed. BOD amount was satisfactory. The number of aluminum sulfates was increased in 2017, with the value above the maximum indicator observed in a month, however, its amount is still within norms in 2018, and the increase is recorded again in spring. The amount of other measured metals are within the norms.

The increase of heavy metal - copper is not surprising at all. Particularly polluted are Mashavera and Kazretula Rivers with copper and other heavy metals. They are contaminated with heavy metals, including copper by LLC “Madneuli (the current name "RMG Copper"). This company was founded in 1975 and is engaged in gold and copper extraction from the query. Some part of them flows into Mtkvari. Although the above-described indicators were observed in the samples taken in Tbilisi, contamination was not so alarming (see Figure 2, 3, 4)



© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Figure 2. *Determine metals Vakhushti Bridge*

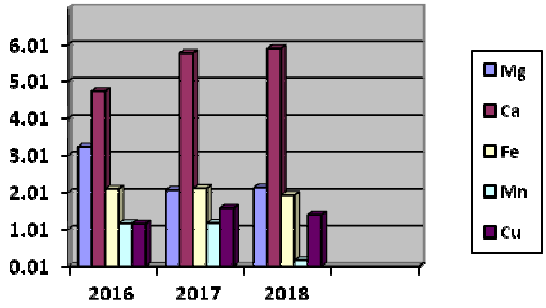


Figure 3. Determine metals Metechi Bridge

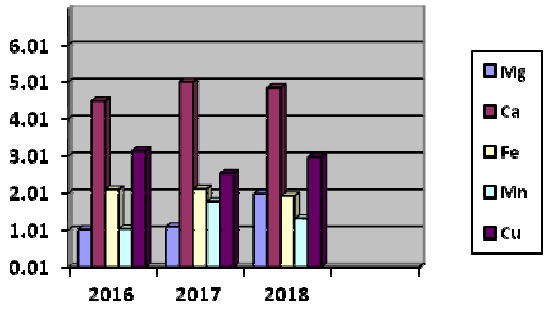


Figure 4. Determine metals at Kars in Turkey

According to the analysis of both countries, Mtkvari is a carbonated river, belonging to a calcium group, which is confirmed by increased levels of the mentioned metallic ions. Hardness increase was especially acute in spring and autumn and it applied to both countries. PH value was close to 8.5, which is also considered to be in the norm. However, an increase was also reported time by time, being reflected on ammonium nitrogen indicator.

It is an important fact that in both countries there is no evidence of pollution with such heavy metals, like zinc, cadmium, and mercury. They constitute the so-called "thyol" poisons and can remain at the protein level in the body. The period of their semi-decomposition in the human body ranges from 100 to 150 days.

The color of Mtkvari river in Georgia is brown grayish, sometimes, particularly after heavy rains, floating solid particles are also observed, confirming anthropogenic pollution. The color of the river in Karsi is greenish-brown, mechanical contamination in the mentioned specific point is less but still noticeable.

As it was mentioned the fish caught in the river is used as food and for sale by the population. Heavy metals may accumulate in fish species, enter the food chain and cause serious harm to human health when the contamination content and exposure are significant [15,16]. The levels of heavy metal accumulation in fish depend on the growth rate, metabolism, feeding pattern and ecological requirements of a given fish species. The harmful effect of trace elements, when consumed above the recommended limit, can be toxic (acute, chronic or sub-chronic), and heavy metals can be a neurotoxin, carcinogenic, mutagenic or teratogenic. The general symptoms of humans related to metal [e.g., Cd, Pb, As, Hg, Zn, Cu and aluminum (Al)] poisoning include vomiting, convulsions, paralysis, ataxia, hemoglobinuria, gastrointestinal disorder, diarrhea, stomatitis, tremor, depression, and pneumonia.

Theoretically for finding out how much heavy metals can be arrived in the human body after using fish in food from the river Kura during one month, can be calculated by the equation (see Eq.1,2,3,4).

Suppose person weighing 80kg, he/she eats 0,5kg of fish containing 0,5 $\mu g/g^{-1}$ copper three times a week during one month. What can be the average concentration of copper in this person's body?

The adult body contains between 1.4 and 2.1mg of copper per kilogram of body weight [17,18, 19, 20, 21]. Theoretical calculation and analysis indicating the necessity to avoid eating the fish caught here.

CONCLUSIONS:

Some chemical characteristics of the Mtkvari river were explored in two neighboring countries. The samples were extracted from Kars territory and from two sampling points in Tbilisi, at Vakhushti Bridge and Metekhi Bridge. During the research, analytical chemistry method, as well as high-tech studies, were applied. The outcomes obtained in the respective country were compared to applicable norms of Georgia, which in turn, are based on Euro standard parameters and are in compliance with the norms applicable in Turkey.

Based on the results, the river is contaminated according to some parameters, however, generally, it is within the limits specified

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

in the standards. In Tbilisi samples there was a slight increase of copper ions and aluminum sulfate, indicating the necessity to avoid eating the fish caught here. However, there is no evidence of 'thiol poisons', zinc, cadmium, and mercury, which is a very important factor.

REFERENCES:

1. Technical Report "National Objectives for Integrated River Basin Planning and Management in Georgia". UNDP/Sida. Reducing Trans-boundary Degradation of the Kura-Aras River Basin. **2015**.
2. William, A., David, E., A History of the Georgian people in the nineteenth century, Routledge & Kegan Paul. **1971**.
3. Kura. The Columbia Encyclopedia, Sixth Edition. **2005**.
4. Kızılöz, B., Kupatadze, K. *J. the Quimica.* **2015,**23, 47-55.
5. Kupatadze, K., Kızılöz, B. *J. the Quimica.* **2016**. 26, 69-78.
6. http://nea.gov.ge/ge/home/
7. Bakir, B., Babayigit, M., Tekba, O. *International Journal of Health Science and Research,* **2015**, 5, 257-265.
8. Williams J., "Environmental Chemistry", J.Wiley & Sons, Canada. **2012**.
9. Sutton R., "Chemistry for the Life Sciences", Taylor&Francis Group. **2008.**
10. https://www.sakaaritim.com/ts-266-inovasyon-standartlari/
11. Bhatia, S.C. "Environmental Chemistry", CBS Publishers and Distributors Pvt. Ltd, **2013**.
12. Rawn, J., "General Chemistry", Wm. C. Brown Publishers, Oxford, England. **2004.**
13. Decree of the Government of Georgia#425, **2013**, 31 December.
14. VanLoon, G. W. "Environmental Chemistry-a global perspective", Oxford Group, **2011**.
15. Çicek , E. FishTaxa 1(1): 14-26. **2016.**
16. Hashim, R., Han Song, T., Zuhartini, N. Trop Life Sci Res. 25, 2, 21-39. **2014**.
17. Baynes, J., Dominiczak, M. Medical Biochemistry. Elsevier. **2014**.
18. Usman,k., *J.of Entomology and Zoology Studies.***2017**. 5 (6), 1726-1728.
19. Czédli, H., Csedreki, L., *Fresenius Environmental Bulletin.***2014.** 7, 1547-1552.
20. Yang, H., Li, J. *Fresenius Environmental Bulletin.* **2013**. 22, 186-193.4,
21. Abhijit, M., Ranju, C. *Environmental Monitoring, and Assessment.* **2012**. 4-12.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Continuance time=Total mass of copper /rate of intake (Eq.1)

According (Eq.1), the rate of intake can be calculated as follows:

Rate of intake =500gr fish×0,5μg/g^{-1}(fish)×3/7day^{-1}=1.1×10^{-1}mg(Cu)day^{-1} (Eq.2)

Continuance time = Total mass of copper/1.1×10^{-1}mg(copper)day^{-1} (Eq.3)

From (Eq.3):

Total mass of copper=Continuance time×Rate of intake (Eq.4)
Than

Total mass of copper= 30 Day × 1.1×10^{-1}mg= 329mg;

The concentration of copper in the body is than: 329mg (Cu)/80kg=4.1mg kg^{-1}

Table 1 Samples from Karsi

index	***Unit***	***2016***	***2017***	***2018***
BOD	mg/l	0.70-4.00	0.87 – 5.41	0.75-6.52
Mineralization	mg/l	222.00-311.3	201.55–355.07	147.00-498.44
Ammonium nitrogen	mg/l	0.002-1.567	0.367-1.345	0.112 –0.432
Mg	mg/l	<0.01	<0.01	<0.01
Ca	mg/l	<10	<11,07	<11,52
Fe	mg/l l	10.01-29.53	5.01-28.00	8.15-28.12
Mn	mg/l	<1.00	<1.00	<1.03
Cu	mg/l	0.005-3.15	0.02–3.75	0.0171-2.98
Sulfates	mg/l	1.00-4.00	1.00-7.8	1.00-4.87

Table 2. Samples from Vakhushi Bridge

Index	***Unit***	***2016***	***2017***	***2018***
BOD	mg/l	0.81-5.81	0.94 – 6.11	0.75-7.93
Mineralization	mg/l	230.1-426.3	204.5–461.37	147.73-527.42
ammonium nitrogen	mg/l	0.001-1.213	0.257-1.174	0.202 –0.959
Mg	mg/l	0.0109-1.2356	0.0023-1.78	0.0016–1.1469
Ca	mg/l	20.15-334.45	19.12-228,01	19.67-151.67
Fe	mg/l l	0.0012–3.1013	0.0197–1.9315	0.0010-2.7801
Mn	mg/l	0.0013–2.1683	0.0047–1.1726	0.0011-1.2729
Cu	mg/l	0.002-1.1538	0.0022–1.2548	0.0153-0.1807
Sulfates	mg/l	9.11-111.09	11.62-541.12	8.20-442.33

Table 3. Samples from Metekhi Bridge

Index	***Unit***	***2016***	***2017***	***2018***
BOD	mg/l	0.73-4.94	0.62-2.03	0.54-4.24
Mineralization	mg/l	251.5-420.7	135.2-322.4	114.5-447.2
ammonium nitrogen	mg/l	0.12-0.74	0.257-0.824	0.202-0.459
Mg	mg/l	32.40-	9.53-41.78	8.53-47.08
Ca	mg/l	16.15-378.00	11.10-245.21	18.15-390.00
Fe	mg/l l	0.0015–2.1003	0.0197–1.9315	0.0097–1.9315
Mn	mg/l	0.1013–1.1782	0.0047–1.1726	0.0033–0.1700
Cu	mg/l	0.005-1.1578	0.0022–1.2548	0.0023–1.3546
Sulfates	mg/l	7.11-90.00	10.21-432.10	8.00-332.33

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

FORMAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE DEPÓSITOS DE ÁGUA MINERAL DO TIPO INJEÇÃOCOMO EXEMPLIFICADOS PELO CAMPO DE CHAPAEVSKOYE NO DISTRITO DE KORSAKOV DA REGIÃO DE SAKHALIN

FORMATION OF CHEMICAL COMPOSITION OF INJECTION-TYPE MINERAL WATER DEPOSITS AS EXEMPLIFIED BY CHAPAEVSKOYE FIELD IN KORSAKOV DISTRICT OF SAKHALIN REGION

ФОРМИРОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА МЕСТОРОЖДЕНИЙ МИНЕРАЛЬНЫХ ВОД ГИДРОИНЖЕКЦИОННОГО ТИПА НА ПРИМЕРЕ МЕСТОРОЖДЕНИЯ «ЧАПАЕВСКОЕ» В КОРСАКОВСКОМ РАЙОНЕ САХАЛИНСКОЙ ОБЛАСТИ

SAKHAROV, Valerii A.*; MOROZOVA, Olga A.; VYPRYAZHKIN, Evgeniy N;, IKENKHI; POLIAK, Hanna S.

Federal State Budget Educational Institution of Higher Education “Sakhalin State University”, Laboratory of physical and chemical research
68 Pogranichnaya St., Yuzhno-Sakhalinsk, 693008, Russian Federation

** Corresponding author*
sakhsakh@yandex.ru

Received 02 October 2018; received in revised form 11 November 2018; accepted 11 November 2018

RESUMO

A água mineral subterrânea é amplamente utilizada na balneologia e na indústria alimentícia. Os depósitos conhecidos são geralmente afastados do consumidor, o que afeta negativamente sua acessibilidade. Uma certa combinação de condições climáticas, hidrologia, tectônica e hidrologia de águas subterrâneas em algumas regiões permite que depósitos de água mineral do tipo injeção se formem nas áreas livres de seus indicadores externos. Os dados necessários podem ser obtidos a partir de fontes literárias disponíveis, o que amplia significativamente as áreas para a pesquisa de depósitos nas proximidades de potenciais consumidores. Os depósitos do tipo injeção apresentam uma estrutura muito complexa, razão pela qual sua exploração e operação têm suas especificidades. Esses aspectos foram abordados em um exemplo específico.O objetivo da pesquisa foi estudar os fatores que permitem a formação de depósitos de água mineral tipo injeção e os fatores que afetam as mudanças na composição química da água subterrânea no curso da exploração da água.O artigo oferece uma visão geral bastante detalhada dos dados sobre o clima, hidrologia, tectônica, geologia e hidrologia de águas subterrâneas da região. A análise de dados nos permite concluir sobre uma possibilidade em princípio da formação de depósitos do tipo injeção na área de estudo. Levantamentos geofísicos de campo, de perfuração e hidrogeológicos foram usados para desenvolver um modelo de depósito bastante detalhado na área escolhida e para mostrar o mecanismo de formação da composição química da água subterrânea.

Palavras-chave: *Água mineral, depósito de água mineral tipo injeção.*

ABSTRACT

Underground mineral water is widely used in balneology and food industry. Known deposits are usually away from the consumer, which negatively affects their accessibility. A certain combination of climatic conditions, hydrology, tectonics and groundwater hydrology in some region makes it possible for injection-type mineral water deposits to form in the areas free of their outer indicators. Required data may be obtained from available literary sources, which significantly expands the areas for the search of deposits in close proximity to potential consumers. Injection-type deposits feature very complex structure, which is why their exploration and operation have its specifics. These aspects have been addressed on a particular example. The research

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

objective is to study the factors that enable the formation of injection-type mineral water deposits in the first place and factors that affect changes of groundwater chemical composition in the course of water exploitation in the second place. The article offers a quite detailed overview of data on the climate, hydrology, tectonics, geology and groundwater hydrology of the region. Data analysis allows us to conclude on a possibility in principle of the formation of injection-type deposits in the study area. Field geophysical, drilling and hydrogeological surveys were used to develop quite a detailed deposit model in the chosen area and to show the mechanism of formation of groundwater chemical composition.

Keywords: *Mineral water, injection-type mineral water deposit.*

АННОТАЦИЯ

Подземные минеральные воды имеют широкое применение в бальнеологии и пищевой промышленности. Известные месторождения, как правило, находятся на значительном удалении от потребителя, что затрудняет их доступность. Определенное сочетание климатических условий, гидрологии, тектоники, геологии и гидрогеологии в каком-либо районе обусловливает возможность формирования месторождений минеральных вод гидроинжекционного типа на территориях, где отсутствуют их внешние признаки. Получить необходимые сведения возможно из доступных литературных источников, что значительно расширяет площади, перспективные для поисков месторождений в непосредственной близости от потенциального потребителя. Месторождения гидроинжекционного типа имеют весьма сложное строение, поэтому их разведка и эксплуатация имеют специфические особенности. Указанные аспекты разобраны на конкретном примере. Цель исследования – изучение факторов, определяющих, во-первых, возможность формирования месторождений минеральных вод гидроинжекционного типа, во-вторых, влияющих на изменение химического состава подземных вод в процессе их эксплуатации. В статье представлен достаточно подробный обзор данных о климате, гидрологии, тектонике, геологии и гидрогеологии района. Анализ данных позволяет сделать вывод о принципиальной возможности формирования месторождений гидроинжекционного типа в рассматриваемом районе. На основе полевых геофизических, буровых и гидрогеологических работ разработана достаточно детальная модель месторождения на выбранном участке, показан механизм формирования химического состава подземных вод.

Ключевые слова: *Минеральные воды, месторождение минеральных вод гидроинжекционного типа.*

INTRODUCTION

Mineral water is widely used in balneology and food industry. However, mineral springs are usually away from the consumer, so water delivery to healthcare centers, mineral water plants, etc. is very costly. That said, review of prospecting results suggests that when natural conditions are combined in a certain way, mineral water deposits develop much more often than assumed, even in the areas free of any outward appearances. These deposits include injection-type mineral water deposits that result from mixing of highly mineralized water that circulates in permeable zones of tectonic faults with fresh water of the hydrogeological section top (Kharitonova, 2013; Posokhov and Tolstikhin, 1977; Vartanyan, 1997; Vartanyan and Yarotskiy, 1972). Identification of the natural factors that enable the formation of injection-type deposits allows to significantly increase perspective areas and, thus, bring their search and exploration sites as close to the consumer as possible. Sure enough, this approach will yield cost advantages.

Injection-type deposits normally feature very complex geological structure and groundwater conditions. This is why water quality issues often occur when these deposits are developed. These issues are mainly caused by two reasons: 1) prospecting shortcomings; 2) operator's non-compliance with the mineral water production method.

The research objective is to study the

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

factors that enable the formation of injection-type mineral water deposits, factors that condition the formation of groundwater chemical composition in natural and disturbed conditions.

MATERIALS AND METHODS

Information sources are data on natural conditions in the study area (https://meteoinfo.ru/climatcities; Hydrogeology of the USSR, 1972; Resources…, 1973; Scientific and applied…, 1990; State water register, 1972; Zharov, n.d.) and results of oil, gas and groundwater prospecting and research conducted in the Sakhalin region. Chapaevskoye deposit data was used as a reference.

Chapaevskoye mineral water deposit is situated in Korsakov district of Sakhalin region, on the right bank of the Komissarovka river valley, on the second bottom, 100 meters to the south of boundary houses of Chapaevo settlement (Fig. 1).

History of deposit discovery. The deposit was discovered by accident. In 1990, search for fresh groundwater was conducted for Chapaevo settlement water supply. A few wells were bored in its suburbs that tapped bedrock base and turned out to contain virtually no water. Only two wells, No. 280 and 270 (Fig. 3), tapped fractured reservoirs and had high yields: 5/6-10 l/s and 3-7 m at lows, correspondingly. The chemical composition of the well water revealed its conformity to GOST 2874-82 “Drinking water” (1984). The wells were tapped to the network; water was supplied to the settlement for household needs. Quite soon, water mineralization in well No. 270 increased to 2.9 g/dm^3, and the water was no longer suitable for household use. Water in well No. 280 has remained fresh until now. Sometimes, mineralization in the well gets up to the critical level caused by a change in the balance of fresh and salty water in good yields.

Results of the chemical analysis of the water from well No. 270 were submitted to the All-Union Research Center for Medical Rehabilitation and Physical Therapy. The center provided the report signed by Professor L. F. Nikolaeva stating that …pursuant to GOST 13273-88 (1988), this water belonged to medicinal drinking water (by its boron content) that could be recommended for internal use at health establishments and for bottling. Indications for use are chronic normal-, hyper- and subacid gastritis, gastric and duodenal ulcer, chronic colitis and enterocolitis, chronic liver and bile passage diseases, chronic pancreatitis, metabolic diseases. In pursuance of this report, authorities decided to use the water from well No. 270 as mineral water.

The following tasks had to be addressed as part of the feasibility study for the arrangement of commercial bottling of medicinal mineral water: - identify the main factors affecting deposit formation; - locate natural boundaries of mineral water surface and depth spread; - assess the scope of mineral water natural resources; - determine the share of resources that may be extracted without detriment to the environment; - obtain data to develop a sustainable deposit exploitation method.

Methods to address the set tasks

Literary sources were collected and reviewed to study the normative documents that regulate criteria of classifying groundwater as mineral medicinal table water, reference materials about the climate, hydrology, stratigraphy, tectonics, geological structure and groundwater conditions of the study area, published data about the structure and development experience of such deposits, repository and archive materials about results of prospecting in Sakhalin region.

Surface geophysical studies were conducted to determine the salty water location and its migration channels towards the ground surface. To this end, the following tasks were solved:

- determination of the geological and tectonic pattern of the deposit area to the depth of 150 m; - determination of mineral water confinedness to tectonic faults and lithologic reservoirs. By analogy with proven mineral water deposits, mineral water is assumed to be confined to the fault zones that normally stand out due to their geoelectric field conduction anomaly. This explains the choice of the work method. The work was conducted by vertical electrical sounding.

Drilling was conducted after areal geophysical investigations. Well locations,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

depth, and design were based on interpretation of geophysical investigation results — drilling comprised specification (verification) of deposit boundaries and building a test well cluster for pumping and production test. The wells were arranged along beams in the line of designed anisotropic axes: wells No. 2,3,4 – parallel to a meridian fault; wells No. 1,5 – perpendicular to it (Fig. 3). The distance from the center well (producer) No. 270 to well No. 1 is 60.0 m; to well No. 2 – 10.0 m; to well No. 3 – 15.0 m; to well No. 4 – 20.0 m; to well No. 5 – 32.0 m. The well pattern and distance between the center and inspection wells were chosen subject to the possible radius of the cone of influence during the pumping and production test. Logging was performed in all wells to determine the detailed breakdown of the exposed geological cross-section; identify rock filtration properties; determine sections with the highest water abundance; and determine differentiation of groundwater salt content by the well depth.

Pumping and production test was conducted to determine the main hydrogeological parameters of the deposit's aquifer system. A total of 10 interval pumping tests from 5 inspection wells and one pumping and production test were conducted. Pumping followed the common method; pumping test took 48 hours each, pumping and production test lasted for 1,128 hours. Pumping and production test was conducted from well No. 270.

Hydrochemical tests of water-bearing formations and systems were conducted to study groundwater chemical composition at varying occurrence depths. Water quality was assessed as per GOST 13273-88 "Mineral drinking medicinal and medicinal table water" (1988). Sampling and chemical tests followed by validated methods.

RESULTS

Main natural factors in the study area.

Climate and hydrography.

The region has a maritime monsoon climate with the mean annual temperature ranging from +1.5 to +3.0oC. The coldest month is January, and the warmest is August (https://meteoinfo.ru/climatcities; Scientific and applied…, 1990). The mean daily temperature shifts through 0oC to the negative area in November, to the positive area – in April. The air temperature in winter reaches minus 26oC, in summer – plus 30oC. The frost-free period varies from 116 to 138 days a year. The mean annual precipitation is 814 mm. Yearly precipitation is unevenly distributed; 15-20% of precipitation occurs in winter. Minimum precipitation is observed in February (20-30 mm), maximum – in August-September (80-100 mm). The warm period (April-October) sees from 400 to 500 mm of precipitation, winter (November-March) sees 150-200 mm (Fig. 2). The first snow falls in late October – early November. Snow cover breaks up in mid-late April. Most snow falls in February-March. The thickness of snow cover across the deposit is uneven. On crags, it normally does not exceed 10 cm, while in topographic lows, it reaches 3-4 m. The frost depth is up to 0.5 m.

Late summer – early fall see cyclones with strong winds and showers in the region that often cause floods. In winter, blizzards causing major snowdrifts are observed. North and north-east dry cold winds prevail in winter and summer mainly sees south and south-east winds. Average wind speed is 3-6 m/s, storm-force winds up to 40 m/s may also occur.

Stream conditions data is based on readings of a water level gauge in Chapaevo settlement (State water register…, 1987), field observations, one-time measurements, and resident interviews.

Komissarovka river is the region's main water course. It is 40 km long, and the watershed area is 500 km2. The average bed width in the study area is 5-6 m. The depth in the low-flow period reaches 1 m. The river valley is U-shaped. The river current speed varies from 0.1 to 3.5 m/s depending on the terrain. The river is mainly nourished by precipitation. The mean annual river flow in the study area is 4-6 m3/s. Ice cover is formed in late November or early December. The freezing period is 120-150 days. Winter levels are 120-130 cm, flow is 0.3-1.1 m3/s. The river breaks up in April. During high water, a significant increase of the river (up to 198 cm) is observed; river flow reaches 55 m3/s. The spring flood period is 6-20 days.

River regime in summer features a stable low water period (130-140 cm)

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

interrupted by steep and short water level rises to 230-373 cm (sometimes catastrophic) as a result of storm rain. The river bursts its banks and floods the floodplain. River flow increases by 3-4 times. The flooding period is 3-5 days.

River temperature conditions depend on the air temperature and range from 7 to 15oC.

Geological structure

Stratigraphy

The region's geological structure is composed of Mesozoic and Cainozoic units universally overlapped by a thin cover of Quarternary deposits.

Mesozoic group

Cretaceous system

Upper section

Bykov formation (K2bk). Bykov formation deposits are the oldest of the study area. The deposits crop out in the east and south-east of the region, in the Komissarovka river basin. They feature north-north-west strike. The formation is made up of alternating silty rock and mudstone with rare thin sandstone and tuff stone streaks.

Silty rock and mudstone are greenish-dark gray in color, both stratified and unstratified. Debris composition: quartz, feldspar, silica rock, rock glass. Sandstone is a polymictic, medium- and coarse-grained, light gray, grey-wacke composition.

The formation is up to 1.600 meters thick.

Cenozoic group

Nummulitic system

Oligocene

Arakay formation (P3ar). Formation deposits strike in a strip of 0.5-0.7 km parallel to Cretaceous formation discharges and make up the Nukhachka-Gremuchka river water parting.

They underlay on Upper Cretaceous deposits with non-conformity. They are mostly represented by coarse rock debris: tuffstone, anisomerous tuff, and tuffite, psammite with tuffaleurolite streaks. Small pebble conglomerates are sometimes found in the formation base.

Tuffstone is gray, yellowish-gray, greenish-gray in color, from fine- to coarse-grained, with prevailing coarse-grained variations, dense, massive broadstone bind rocks. At times, the much tufaceous material is present.

Oval or pillow-like marly noddles from several centimeters to 0.5 meter in diameter are often observed in tufaceous sandstone.

Tuffaleurolite is gray, greenish-gray in color, dense, comprise fine rubbles, often with pillow-like jointing, low silica content, well sorted, with minor bedding in spots.

Tuff and tuffite are dense, massive rocks mostly represented by psammitic variations.

The formation rocks are up to 750 meters thick.

Neogene system.

Lower section.

Kholmsk formation (N1hl) crops out in most of the study area. It lies conformably with gradational contact on underlying Arakay formation deposits. It is represented by a uniform series of unclear alternation of siliceous argillite and silty rocks that contain pyroclastic material with rare thin tuffstone and acidic zeolitized tuff streaks and small pebble conglomerates lenses and streaks.

Siliceous argillite and silty rocks are gray, yellowish-gray, brownish-light-gray in color, comprise fine rubbles, quite dense in debris.

Tuffstone is fine- and medium-grained, gray, greenish-gray or yellowish-gray in color, dense, thin-slabby, well or moderately sorted, sometimes thinly bedded due to some content of tuff.

Tuff is mostly politic or aleurolitic, gray, light-gray or yellowish-light-gray in color, dense, slabby. Tuff contains cement in the form of zeolitized rock glass.

Conglomerates are gray, brown-gray in color, mostly small pebbles, dense, massive. They lie as lenses or lenticular interbeds up to 2 meters deep.

The formation rocks are 1,800 meters thick.

Quarternary system.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Quarternary deposits are represented by eluvial, diluvial and alluvial units.

Eluvio-diluvial units are represented by weathered rock debris. The composition is fully dependant on lithology of the latter. In the Bykov formation discharge field, eluvio-diluvial units are represented by loam and clay, in the Arakay formation discharge field – by rubble-block units. Quarternary rocks in the Kholmsk formation discharge field have a typical appearance. They are represented by gruss-rock series of weathered silica rocks.

Alluvial deposits are found in river and brook valleys and are represented by gravel, sand, clay sand and loam.

Tectonics

Tectonically, the study area is situated in the Cainozoic folding development area. Deposits are combined in the upper structural and formational lift divided into two structural stages: Upper Cretaceous and Paleogene-Neogene (Zharov, n.d.).

The Upper Cretaceous structural stage is represented by Bykov formation deposits that make up the submeridional strike monocline with a west dip at 50-65o. With the formation of the Paleogene-Neogene structural stage, the contact has pronounced unconformity.

The Paleogene-Neogene structural stage is represented by Arakay and Kholmsk formation deposits. The rocks of this stage are contorted to form gentle elongated folds. These are Komissarovka and Odessitka anticlinal and Gaydukov and Odessitka synclinal folds.

Komissarovka upfold in the Komissarovka river basin is traced to 6.5 km, and its width is 2 km. The fold axis in the plan is arched, its convex faces east. The fold plunges southward. The fold is made up of Kholmsk formation rocks. The fold is asymmetrical; its western flank has a lower angle (10-15o), its eastern flank is steep (up to 30o). The southern and northern closings of the Komissarovka upfold are cut off by tectonic faults. Odessitka anticlinal fold is observed in the Odessitka river basin; it is made up of Kholmsk formation rocks. It is traced to 5 km. It is a narrow ctenidium not more than 1 km wide. Rocks on flanks dip at 45o; the eastern flank is steeper than the western one. The southern closing of this structure is cut off by an oblique shift fault, and the northern one lies beyond the study area. The fold axis has a submeridional strike, and the fold has a shallow plunge southward.

Gaydukov synclinal fold is situated between the Komissarovka and Odessitka anticlinal folds. This structure is made up of Kholmsk formation rocks, and it features sharp flank dip. A diagonal break splits it into two blocks.

To the east of the Odessitka anticlinal fold, there is a syncline structure of the same name. It has a steep (up to 35o) western flank and a more gently sloping eastern flank. It is made up of Kholmsk formation rocks.

Fractures were identified by aerial photo interpretation. The principal fractures of the study region are meridional and submeridional faults with steep dips of fault planes close to vertical. They are observed in the Kholmsk formation deposit development field and along the Oligocene Arakay formation contact with Miocene Kholmsk formation and Upper Cretaceous Bykov formation units and they predetermine the horst type of Arakay formation rock yields.

North-western rhumb faults complicate submeridional tectonic faults and often displace them to the left. They have relatively low dips and are, perhaps, upcasts or upthrow-shifts.

North-eastern faults are locally developed. When crossing north-western faults, they form strong crush zones favoring the accumulation of gravitational water, often with higher mineral and trace element content. Chapaevskoye mineral water deposit is confined to such zone.

Hydrogeological conditions

The deposit is situated within the Yuzhno-Sakhalinsk hydrogeological massif that accommodates aquifer systems represented by rocks of various origin and lithologic and petrographic composition aged from Upper Cretaceous to Quarternary (Hydrogeology of the USSR, 1972). Geological structure, structural and tectonic features of the massif conditioned the formation of groundwater classified as interstitial, fissure and fissure-vein water in terms of circulation conditions.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

The following aquifer systems are common in the region:

- Quarternary deposit aquifer system (Q);
- Kholmsk formation Lower Miocene deposit aquifer system (N1hl);
- Arakay formation Oligocene deposit aquifer system (P3ar);
- Bykov formation Upper Cretaceous deposit aquifer system (K2bk).

The quarternary deposit aquifer system is scattered due to the low thickness of Quarternary deposits. Mostly, alluvial deposits of river and brook valleys are water cut; other genetic types of Quarternary deposits are little water cut.

Alluvial deposits are represented by poorly sorted field stone, pebble, sand, and loam not more than 5-6 meters thick.

Groundwater forms a common aquiferous nonartesian water column, in which levels come close to the day surface (1-2 m). The aquifer system is nourished through inflow seepage of precipitation and river floodwater. Water discharges into rivers and brooks.

Source yield is 0.3-0.4 l/s, and the specific well yield is 0.76-2.6 l/s*m. The system's water is colorless, odorless and tasteless, cold, fresh (total dissolved salts – up to 0.5 g/dm3), hydrocarbonate, sodium, calcium, very soft, pH = 7.0-7.6.

The water is used for household needs. It is exploited by local communities using shallow wells. In terms of mineral water search, the Quarternary deposit aquifer system is of no importance.

Kholmsk formation Lower Miocene deposit aquifer system (N1hl) is well developed in most of the study area.

Water-bearing rocks are represented by silty rocks, tuffaleurolite, sandstone, tuffstone, mudstone that feature very low permeability, due to which the aquifer system has very low filtration properties. Water abundance of the system rises considerably within tectonic fault zones where well yield reaches 700 m3/day, unlike nearly water-free rocks outside of crush zones.

Groundwater chemical composition is controlled by the tectonic faults it is confined to. Freshwater within crush zones is usually of infiltration origin. It is nourished at its outcrops and by inflow from adjacent water-bearing formations and systems. Water discharges into surface watercourses or underlying water-bearing formations. In certain cases, tectonic faults act as a transit zone for the mineralized water with trace elements coming from depth.

In favorable conditions, the mixing of two water types – fresh infiltration and deep mineralized – results in low-salt water, medicinal table water valuable in terms of balneology.

Arakay formation Oligocene deposit aquifer system is common in the east of the region; it extends in a strip 0.5-0.7 km wide from north-east south-westward.

Water-bearing rocks are represented by silty rocks and sandstone with a considerable share of tufaceous material. The water is classified as a fissure and stratal-fissure in terms of water circulation and nourishment conditions.

Well yields vary from nearly water-free to 8.0 l/s. Source yields range from 0.01 to 0.5 l/s. Water is nourished by precipitation. The flow is directed from water partings towards rivers. Water discharges into rivers and creek valleys. Overall, the aquifer system is little water cut.

Groundwater chemical composition is characterized by various content of main components and mineralization. Within the study area, the system's water is fresh with mineralization of 0.2-0.4 g/dm3. In terms of anionic composition, the water is mainly hydrocarbonate, and chloride type is less common. The cationic composition is sodium or sodium-calcium.

Bykov formation Upper Cretaceous deposit aquifer system is commonly found in the eastern part of the region. Water-bearing deposits are represented by mudstone, silty rocks with rare sandstone streaks. Groundwater is of fissure type only. At the section top, near the day surface, soil water occurs to the depth of 10-20 meters, rarely deeper. Water abundance of the system is very low, and spring yield does not exceed 0.1 l/s. The water is fresh, sodium bicarbonate type.

Groundwater of deep layers is of high-

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

pressure type. Measured surplus pressure reaches 220 m above ground. Water abundance is low, well yield does not exceed 0.05 l/s at a depression to 100-500 m. In terms of its chemical composition, the water is of sodium chloride type with mineralization of up to 30 g/dm3. The water has a high content of iodine, bromine, boron.

Due to its low water abundance, the system is of no interest for water supply or other needs. Still, certain crush zones are relatively water-abundant, and it is probable that the water they contain may be of balneological value.

DISCUSSION

The study of literary sources on the climate, hydrology, tectonics, geology and groundwater conditions of the study area has shown that, by a set of features, the area is prospective in terms of the formation of injection-type mineral water deposits. Firstly, the study area has developed bedrocks that have low filtration properties in an undisturbed condition. Fissure-vein water with high mineralization may accumulate within fractures, while low rock permeability prevents mineralization attenuation in these local zones. Secondly, wet and mild climate ensures year-round ingress of fresh water from the land surface into water-bearing formations.

Interpretation of surface geophysical survey results allowed to outline the mineralized water spreading dome and specify the drilling procedure. A detailed deposit model was built based on drilling and groundwater inflow testing results.

Two aquifer systems are developed directly at the deposit (Fig. 3):

1. Quarternary deposit aquifer system (Q);

2. Kholmsk formation Miocene deposit aquifer system (N1hl).

The quarternary deposit aquifer system is found all over the deposit territory; it is up to 12 meters thick and is represented by dense loam, gravel, pebble with sand and sandy-loam aggregate.

Kholmsk formation Miocene deposit aquifer system (N1hl) is found all over the deposit territory. The system is studied to the depth of 120 meters. In the interval of 0-40 meters, beyond the tectonic fault zone, it is mostly represented by poorly sorted dense silty rocks and quar. Rocks have low filtration properties, well yields range from 0.01 to 0.05 l/s at depressions from 3 to 15 m. Static levels were established at a depth of 6-14 from the ground.

The water is used on a case-by-case basis for household needs.

In tectonic fault zones, rock filtration properties increase significantly.

Fault tectonics plays a key role in the formation of the Chapaevskoye mineral water deposit. Three late Pliocene-Miocene tectonic faults are identified at the deposit.

The overthrust type sublatitudinal fault was identified by aerial photo interpretation in the scale of 1:50 000 and completed by exploratory wells. The fracture zone crops out in the Komissarovka river valley as a strip 70 m wide. Drilling revealed that the fault was represented by a crush zone up to 40 m thick. Within this zone, sandstone and silty rocks are strongly fractured; in the west – to breccia comprising debris and ballast with sand and sandy-loam aggregate, in the east – to mylonite.

The second system of submeridional strike faults is represented by two parallel upcasts heavy pitching south-westward. They are younger; they complicate the sublatitudinal fault and split the crush zone confined to it into three blocks.

Fault tectonics affects the deposit formation as follows. The sublatitudinal fault crush zone is heterogeneous within site. Block I is made up of heavy fractured rocks; in block II, rocks feature high fracturing, but individual cracks are filled with calcite and clay matter; in block III, rocks in the fracture zone are ground to mylonite. Most likely, the sublatitudinal thrust crush zone at individual sites (blocks I, II) was under tension stress exposed to meridian upcasts, which resulted in rock decompaction and increased permeability. Thus, both north-south strike faults are represented by heavy fractured rocks and are hydrogeologically active.

The most favorable conditions for accumulation of gravitational water are observed in fault junction zones.

Pumping tests yielded the following

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

results. When the Kholmsk formation deposit aquifer system was tested outside of tectonic fault zones (0-40 m interval), all the wells had minor groundwater inflow. Yields ranged from 0.01 l/s (well No. 5) to 0,05 l/s (wells No. 2,3) at depressions of 13.9-15.1 m, specific yields were 0.001 l/s*m and 0.01 l/s*m. The submeridional strike tectonic fault was tested by wells No. 3 and 4. Yields were 0.8-0.95 l/s at depressions of 2, and 4.9 m, correspondingly, specific yields were 0.32 l/s*m and 0.125 l/s*m. The sublatitudinal fault was tested by wells No. 1 and 2. Pumping rates were 1.0 l/s and 1.6 l/s at depressions of, correspondingly, 9.5 and 7.25 m, specific yields were 0.11 l/s*m and 0.21 l/s*m.

Pumping and production test of well No. 270 with a yield of 10 l/s was started with operating well No. 280, from which fresh water was extracted with a yield of 4-6 l/s. All inspection wells responded to pumping. During pumping (47 days), no level stabilization was attained in the center and inspection wells. The level in the center well at the working end went down by 16.5 m. Pumping and production test confirmed high water abundance of the area. Results of pumping graphical analytic processing and depression cone developmental character allow to conclude that hydrodynamic conditions of the area follow the “strip aquifer” pattern. The response of inspection wells No. 2,3 to the outage of well No. 280 implies that wells No. 280 and 270 capped one aquifer system and were in close hydrodynamic interaction.

Chemical composition formation

The following conclusions were drawn from the scientific literature on boron geochemistry (Gasanova and Bykova, 2015; Ivanov, 1994; Kraynov, 1964, 1973; Kraynov and Zakutin, 1994; Kraynov *et al.*, 2004; Posokhov, 1975; Shvartsev, 1982, 1998; Zakutin, 2010; Zakutin and Palkin, 2000) and experience of exploring mineral water deposits in the Russian Far East (Chelnokov *et al.*, 2010; Kharitonova, 2013). In Neogene deposits below the active water exchange zone, sedimentation water of marine origin with sodium chloride composition and mineralization of up to 20 g/dm^3 is commonly found. Hydrocarbonate-ion in the deposit water apparently develops during decalcification subject to high carbonate content of igneous-sedimentary rocks; boron is of thermometamorphic origin. Boron originally added to sandy and clay rocks through volcanism later on partially leached out from the rocks subject to a sufficiently high temperature accompanied by carbonic acid release. The direct relationship between boron content and mineralization was established at the deposit (Fig. 4).

The deposit is of “injection” type (Vartanyan, 1977). It was formed as a result of mineral water penetration along the zone of fracture of the submeridional strike in the fresh water circulating in Quarternary deposits and the tectonic fault of the sublatitudinal strike.

Freshwater in the zone of fracture was exposed by well No. 280. The water is clear, colorless, odorless, cold. Water mineralization ranges from 0.53 to 1 g/dm^3. The water is of sodium bicarbonate type, slightly alkaline (pH – 8.1-8.9), very soft (total hardness – 0.45-1.05 meq/dm^3).

Typical ion composition formula described in Equation 1:

$$M_{0,53}\ \frac{HCO_3\ 87\ Cl12\ SO_4\ 1}{Na\ 93\ Ca\ 5\ Mg\ 2}\quad \begin{matrix} pH\ 8,1 \\ O_2 1,76 \end{matrix} \qquad \text{(Eq.1)}$$

Mineral water was sampled in the interval of 40 to 100 m. The water is clear, cold, colorless, with a slight vague smell. The water is of chloride-hydrocarbonate and sodium composition with high boron content. Typical ion composition formula is presented in Equation 2:

$$M_{2,3}\ \frac{\begin{matrix} HCO_3 61 Cl28 \\ CO_3\ 18 \end{matrix}}{\begin{matrix} Na\ 98\ M \\ g2 \end{matrix}}\quad pH\ 8,5\ O_2 1,96\ B71,5\ J1,3\ Br0,4 \qquad \text{(Eq.2)}$$

The water is very soft (total hardness – 0.25-0.97 meq/dm^3), slightly alkaline (pH – 8.6-8.9).

Content range of the main chemical components for well 270 is provided in Table 1.

Water microcomponent composition is extremely poor. The maximum content of trace elements for well No. 270 is shown in Table 2.

No boron, beryllium, tantalum, niobium, indium, stannum, wolframium, cobalt, silver,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

bismuth, cadmium, mercury, antimony, gallium, germanium, hafnium, lanthanium, cerium, tellurium, aurum, yttrium, iterium, scandium, phosphorus were found in water.

In terms of its quality characteristics, the water fully conforms to GOST 13273-88 (1988) that applies to medicinal mineral water and is classified as group I-a, “Sodium bicarbonate boron water”, “Nelepinsky” type.

During production studies and tests under various water withdrawal conditions, no noticeable change in the water chemical composition was observed. It yielded conclusion on stable water quality for further exploitation of the deposit. However, according to consumers, sizeable fluctuations of water mineralization and chemical composition are observed in operation both in well No. 280 (“fresh”) used for household purposes and in well No. 270 – mineral. In well No. 280, water sometimes tastes a little salty during low water, while in well No. 270, water mineralization noticeably decreases during floods, and the water gets bitterish during low water. Thus, conclusions on the stable chemical composition of groundwater are not supported.

It is due to wrong interpretation of the results of groundwater inflow testing and lack of such tests.

The authors concluded that the boundary with block III has fixed rate flow, but they did not specify its value. Most likely, well No. 5 does not respond to pumping, and its recorded level fluctuations are caused by natural factors; thus, it is a no-flow boundary – Q=0. Moreover, melinite with clay is found in block III. This assumption is also supported by a slow level recovery in well 270. Thus, water flows into the wells along the sublatitudinal fault from the Komissarovka river (fresh) and from the western submeridional fault (salty). Water intermingles. Its chemical composition depends on the rate of water inflow from the above sources, and it must vary subject to well yields, which is actually the case. During low water, the share of salty water increases in well No. 270 following reduction in surface nourishment (freshwater) and mineral content in the well water increases (sometimes with a slight hydrogen-sulfide odor). During floods, correspondingly, the share of freshwater increases and mineralization attenuates.

The same situation is observed in “freshwater” well No. 280. The only difference is the distance to the salty water source. This is why, when water is low, mineralization may increase, and the water gets a little salty.

Since wells No. 280 and 270 expose the same aquifer system and are situated close to one another, they naturally operate in close hydrodynamic interaction. Flow rates of both wells must be adjusted (with regard to the above operation factors) so as to preserve the quality of both fresh and mineral water.

CONCLUSIONS:

1. Comprehensive analysis of literary sources on natural conditions allows us to conclude on a possibility in principle of the formation of injection-type mineral water deposits in the study area.

2. The chemical composition of both fresh and mineral water at the deposit is formed during its operation as a result of the mixing of mineralized water coming from the tectonic fault and fresh water coming from the ground water-bearing formation and Komissarovka river.

3. Composition and mineralization of well water depend on ratios of deep and surface water, which, in their turn, are subject to well yields.

4. Monitoring over the operation of the “fresh” and “mineral’ wells is recommended (Rules…, 1998).

5. Well yields must be adjusted subject to seasonal fluctuations in order to maintain the chemical composition in production wells, both “fresh” and “mineral”, within quality requirements.

ACKNOWLEDGEMENTS

Materials of Sakhalin Hydrogeological Company were used. Hydrogeology engineers V. A. Furman, O. P. Troshkin, L. I. Zhukova, E. A. Spalilo took part in the work. Drilling and test surveys were conducted by a crew headed by drilling foreman V. A. Kudashkin, organizational supervision was exercised by A. F. Pryadko and I. G. Zavadskiy. The results were obtained as part of the execution of the state task of the Russian Ministry of Education

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

and Science: 5.9560.2017/8.9.

REFERENCES:

1. Chelnokov, G. A.; Kharitonova, N. A.; Taran, Y. A.; Geochemistry of mineral water and associated gases from the lotus aquifer Primorye, Far East Russia; *Global Ground-water Resources and Management;* Paliwal, B. S., ed.; Scientific Publishers: Jodhpur, 2010.
2. Gasanova, E. R.; Bykova, V. V.; Importance of the boron geochemistry for the groundwater of Tomsk region, *Rogov readings. April 7-9, 2015.*\, Tomsk, 2015.
3. *GOST 13273-88 Mineral drinking medicinal and medicinal table water. Specifications*, Nedra: Moscow, 1988.
4. *GOST 2874-82 Drinking water. Specification,* Publishing house of standards: Moscow, 1984.
5. https://meteoinfo.ru/climatcities; Accessed on 20/12/2018.
6. *Hydrogeology of the USSR. Volume XXIV. Sakhalin island*, Nedra: Moscow, 1972.
7. Ivanov, V. V.; *Environmental geochemistry of elements. Manual in 6 books. Book 2. Basic p-elements,* Moscow: Nedra, 1994.
8. Kharitonova, N. A.; *Acidulous water of the northeast of Asia: origin and evolution, Doctoral thesis,* Tomsk, 2013.
9. Kraynov, S. R.; *Geochemistry of rare elements in groundwater (related to geochemical search for deposits),* Nedra: Moscow, 1973.
10. Kraynov, S. R.; *Hydrogeochemical method of prospecting for boron deposits*, Nedra: Moscow, 1964.
11. Kraynov, S. R.; Ryzhenko, B. N.; Shvets, V. M.; *Geochemistry of groundwater. Theoretical, practical, and environmental aspects*, Nauka: Moscow, 2004.
12. Kraynov, S. R.; Zakutin, V. P.; Geochemical and environmental condition of Russia's groundwater (reasons and trends for the change of chemical content of underground water); *Geochemistry* **1994**, 3, 321.
13. Posokhov, Ye. V.; *General hydrogeochemistry*, Nedra: Leningrad, 1975.
14. Posokhov, Ye. V.; Tolstikhin, N. I.; *Mineral water: medicinal, industrial power*, Nedra: Leningrad, 1977.
15. *Resources of the USSR surface water. Vol. 18. Far East. Issue 4. Sakhalin and Kuril Islands,* Gidrometeoizdat: Leningrad, 1973.
16. *Rules for the development of the deposits of mineral water and therapeutic muds,* Gosgortekhnadzor: Moscow, 1998.
17. *Scientific and applied reference on climate of the USSR. Series 3. Long-term data. Parts 1-6. Issue 34. Sakhalin region,* Gidrometeoizdat: Leningrad, 1990.
18. Shvartsev, S. L., ed.; *Basics of hydrogeology. Hydrogeochemistry*, Nauka: Novosibirsk, 1982.
19. Shvartsev, S. L.; *Hydrogeochemistry of hypergenesis zone,* Nedra: Moscow, 1998.
20. *State water register. Long-term data on surface water mode and resources. Vol. 1. RSFSR. Issue 22. Sakhalin Region river basin,* Leningrad: Gidrometeoizdat, 1987.
21. Vartanyan, G. S.; *Acidulous water deposits in fold-mountain regions,* Nedra: Moscow, 1977.
22. Vartanyan, G. S.; Yarotskiy, L. A.; *Exploration, prospecting, and appraisal of useful resources of mineral water deposits*, Nedra: Moscow, 1972.
23. Zakutin, V. P.; Palkin, S. S.; Boron-containing fresh groundwater (patterns of regional distribution and formation); *Forth international congress Water: Ecology and Technology. Ecwatech-2000. May 30 - June 2, 2000;* Moscow, 2000.
24. Zakutin, V. P.; The main geochemical specifics of boron in fresh groundwater; *Environmental geology. Engineering geology. Hydrogeology. Geocryology* **2010**, 1, 30.
25. Zharov, A. E.; *Geologic map of the Russian Federation. Scale 1:200000, Sakhalin series.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

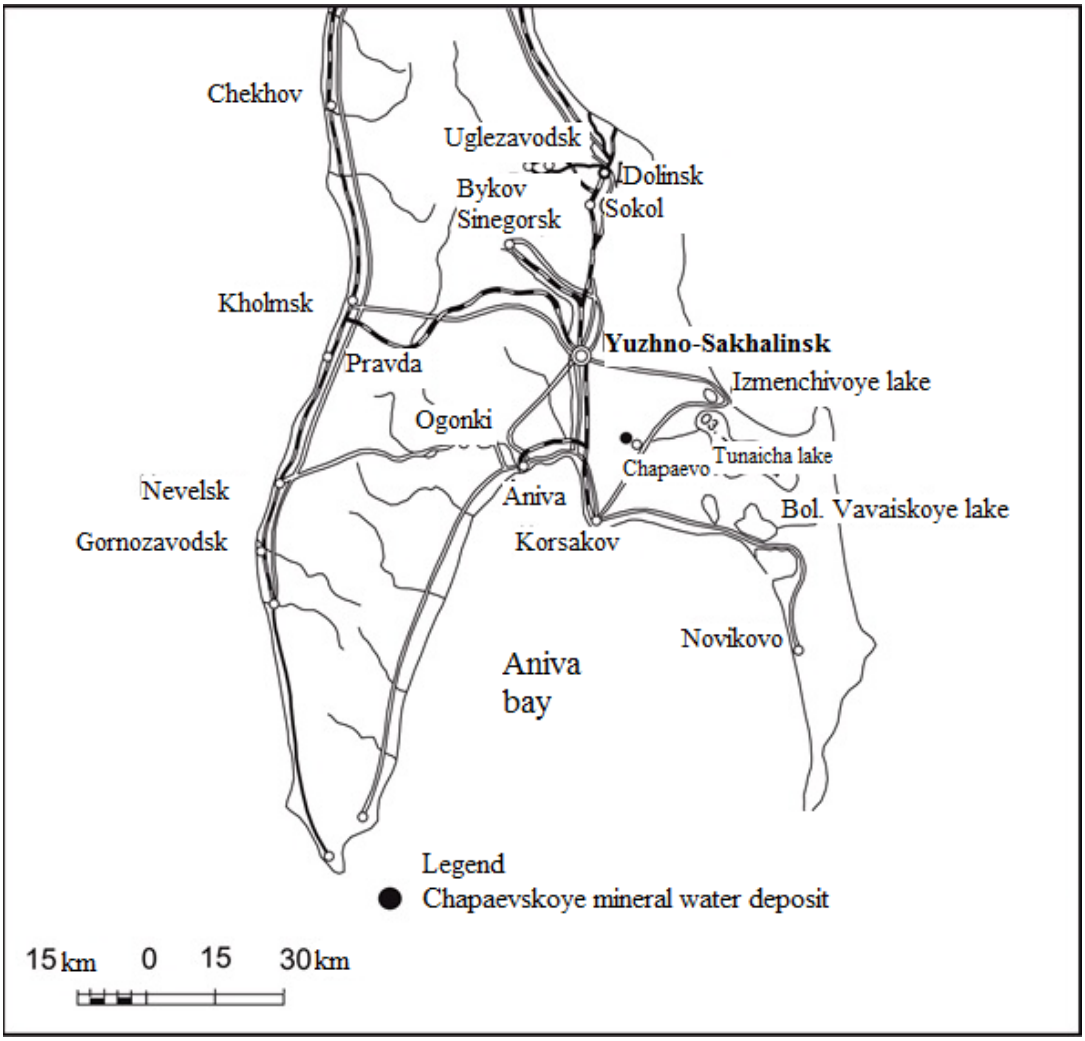
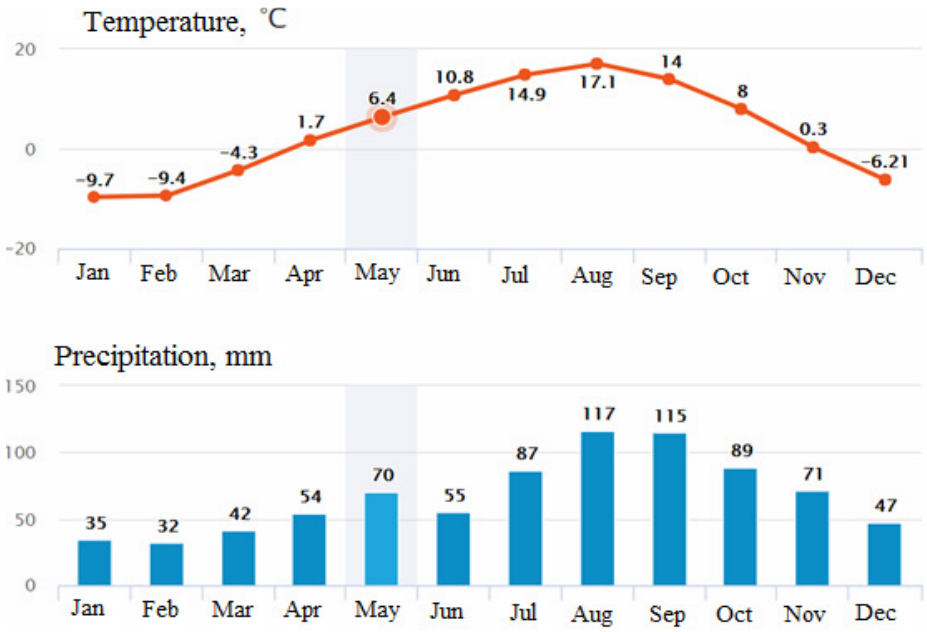
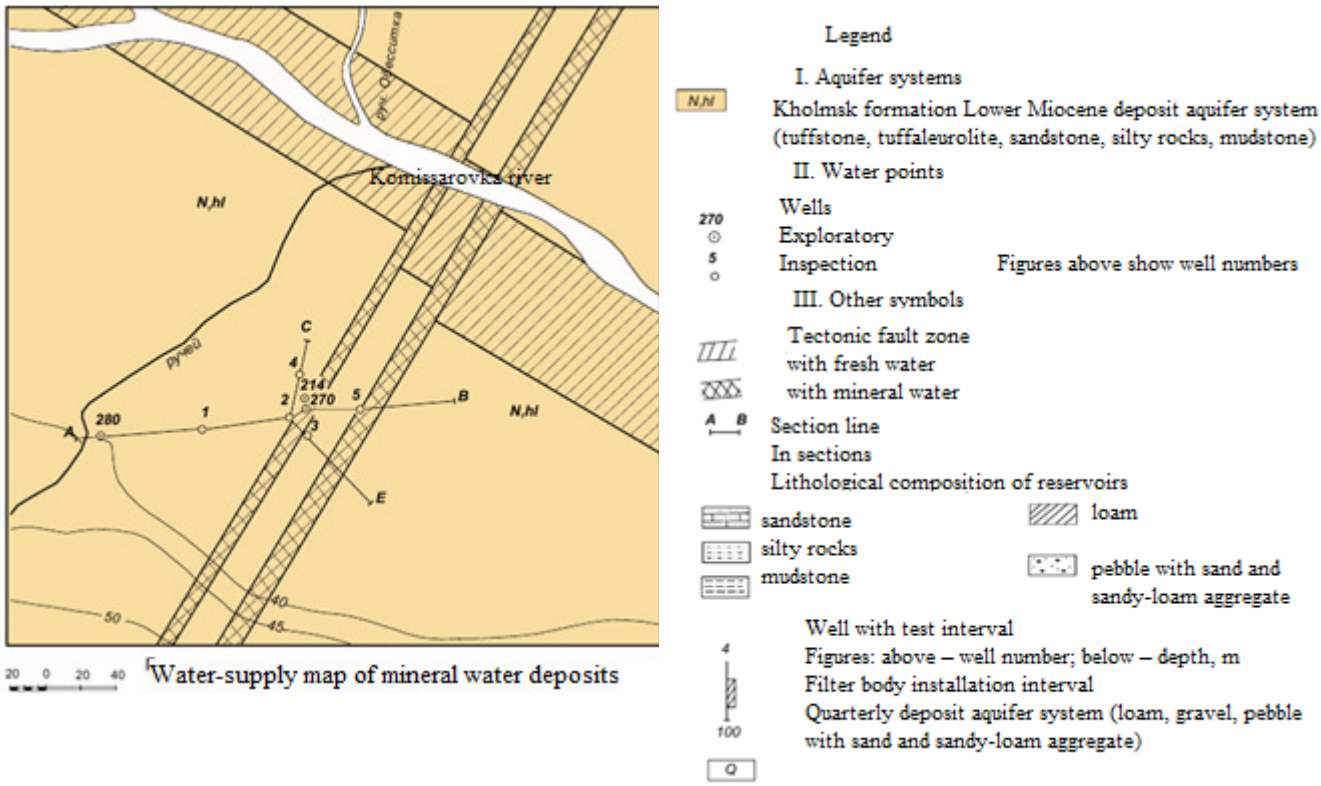


Figure 1. *Chapaevskoye deposit location map*



© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Figure 2. *Monthly average temperature and precipitation characteristics at Korsakov weather station*



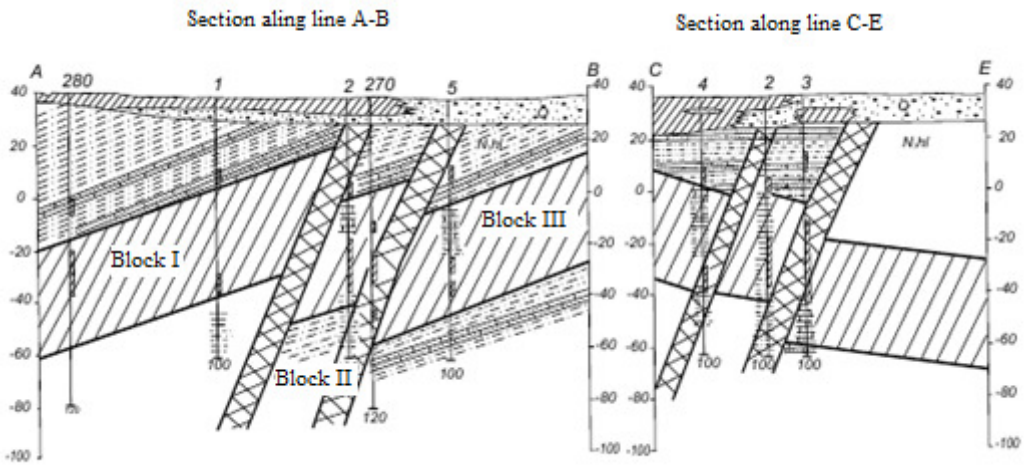


Figure 3. *Water-supply map of the Chapaevskoye mineral water deposit*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

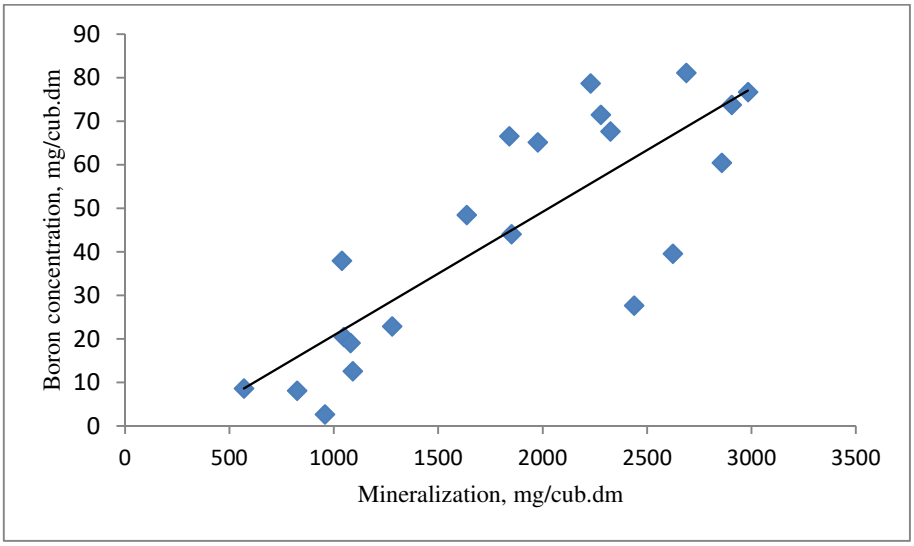


Figure 4. *Water boron concentration – mineralization curve*

Table 1. *Content range of the main chemical components for well 270*

Name	UoM	Contents	
		from	to
Total dissolved salts	mg/dm^3	1,636.3	2,721.7
HCO_3^-	mg/dm^3	825.0	1,726.9
SO_4^{2-}	mg/dm^3	3.7	26.7
Cl^-	mg/dm^3	124.0	282.0
Ca^{2+}	mg/dm^3	3.0	22.45
Mg^{2+}	mg/dm^3	2.8	7.0
$Na^- + K^-$	mg/dm^3	535.4	807.9
B	mg/dm^3	48.6	81.1
H_3BO_3	mg/dm^3	220.0	420.0
J	mg/dm^3	0.8	1.3
SiO_2	mg/dm^3	10.4	21.6
Total hardness	meq/dm^3	0.42	1.6
pH	mg/dm^3	8.4	8.7
Oxidability	mgO_2/dm^3	2.92	3.57

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 2. *The maximum content of trace elements for well No. 270*

Name	Content, mg/dm^3	
	limit as per OST 41-05-236-86	**Well 270**
Mn	00.6	0.041
Ti	0.1	0.213
V	0.4	0.002
Cu	0.05	0.002
Ni	-	0.005
Zn	1.0	0.049
Pb	0.03	0.005
Zr	-	0.065
Li	5	0.0418

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

PAPEL DO HORMÔNIO DA TIROIDE NO ESTADO METABÓLICO E FORMAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS ECONÔMICAS BENÉFICAS EM LEITOAS DE REPOSIÇÃO DE RAÇAS DIFERENTES

THYROID HORMONE ROLE IN METABOLIC STATUS AND ECONOMIC BENEFICIAL FEATURES FORMATION IN REPLACEMENT GILTS OF DIFFERENT BREEDS

РОЛЬ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ В ФОРМИРОВАНИИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СТАТУСА И ХОЗЯЙСТВЕННО-ПОЛЕЗНЫХ ПРИЗНАКОВ У РЕМОНТНЫХ СВИНОК РАЗНЫХ ПОРОД

DERKHO, Marina A.*; GRITSENKO, Svetlana A.; VILVER, Dmitriy S.; SEREDA, Tatiana I.; FOMINA, Natalia V.

Federal State Funded Educational Institution of Higher Education "South-Urals State Agrarian University"
13 Gagarin St., Troitsk, Chelyabinsk region, 457100, Russian Federation

** Corresponding author*
derkho2010@yandex.ru

Received 03 October 2018; received in revised form 14 November 2018; accepted 14 November 2018

RESUMO

Foram estudadas as peculiaridades da regulação pituitária-tireoidiana do metabolismo protéico nas porcas de reposição de diferentes raças e as correlações entre os níveis hormonais e os parâmetros sanguíneos e as características economicamente benéficas. Os grupos de teste foram formados com base nos resultados da avaliação realizada quando as leitoas obtiveram 100,00 ± 10,00 kg de peso vivo. O primeiro grupo incluiu animais Duroc (n = 30), o segundo grupo - animais Yorkshire (n = 90) e o terceiro grupo - animais Landrace (n = 15). O estudo foi conduzido por métodos de pesquisa biotecnológica, bioquímica e estatística. Ficou provado que os níveis de TSH e TSH de Duroc, Yorkshire e Landrace não foram significativamente diferentes, suas concentrações hormônais variaram dentro da faixa de 7,60±0,12 a 8,61±0,28 pmol/L e 0,02±0,001 a 0,03±0,004 μIU/ml, respectivamente . Os níveis de T4 nas leitoas Landrace foram maiores que os análogos em 27,41 e 28,91% (ρ ≤ 0,05). A taxa de bioconversão da hormona tiroideia (T3 / T4) foi avaliada pela razão TSH/T3, TSH/T4 e TSH/T3 + T4. A concentração de proteínas totais, albuminas, globulinas e coeficiente Alb/Gl variou dentro da faixa de 63,73±0,72 a 65,99±0,51, 28,56±0,34 a 29,23±0,67, 34,47±1,12 a 37,43±0,61 g/L e 0,76 ± 0,02 –0,86 ± 0,04 SU, respectivamente, e não dependiam da raça. Correlações significativas foram reveladas em Durocs entre T3 - urina (r = –0,42 ± 0,15; ≤ 0,05) e TSH - ganho de peso absoluto, tempo de desmame (r = 0,52±0,13; ≤ 0,05); em Yorkshires, T3 - proteína total (r = –0,31±0,10) e T4 - ganho de peso absoluto, tempo de desmame (r = 0,51 ± 0,08; ≤ 0,05); em Landraces, T4 - proteína total (r = - 0,68±0,14; ≤ 0,05) e T4 - idade de avaliação (r = 0,66±0,15; ≤ 0,05).

Palavras-chave: *leitoas, status hipofisário-tireoidiano, proteínas, correlação, características benéficas econômicas.*

ABSTRACT

The peculiarities of pituitary- thyroid regulation of the protein metabolism in the replacement gilts of different bred and the correlations between the hormone levels and the blood parameters and economically beneficial features were studied. The test groups were formed based on the results of the assessment that was performed when the gilts gained 100.00 ± 10.00 kg of live weight. The first group included Duroc animals (n=30), the second group – Yorkshire animals (n=90) and the third group – Landrace animals (n=15). The study was conducted by biotechnological, biochemical and statistical research methods. It was proved that Duroc, Yorkshire and Landrace gilts T3 and TSH levels were not significantly different, their hormone concentration varied within the range of 7.60±0.12 – 8.61±0.28 pmol/L and 0.02±0.001 – 0.03±0.004 μIU/ml, respectively. T4 levels in Landrace gilts were higher than in analogs by 27.41 and 28.91% (p≤0.05). The rate of thyroid hormone

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

bioconversion (T3/T4) was evaluated by the ratio of TSH/T3, TSH/T4,and TSH/T3+T4. The concentration of total protein, albumins, globulins, and Alb/Gl-coefficient varied within the range of 63.73±0.72 – 65.99±0.51, 28.56±0.34 –29.23±0.67, 34.47±1.12 – 37.43±0.61 g/L and 0.76±0.02 –0.86±0.04 SU, respectively, and did not depend on the breed. Significant correlations were revealed in Durocs between T3 – urine (r= –0.42±0.15; p≤0.05) and TSH - absolute weight gain, weaning time (r=0.52±0.13; p≤0.05); in Yorkshires, T3 – total protein (r= –0.31±0.10) and T4 - absolute weight gain, weaning time (r=0.51±0.08; p≤0.05); in Landraces, T4 – total protein (r= – 0.68±0.14; p≤0.05) and T4 - assessment age (r=0.66±0.15; p≤0.05).

Keywords: *gilts, pituitary-thyroid status, proteins, correlation, beneficial economic features.*

АННОТАЦИЯ

Изучено влияние породы ремонтных свинок на гипофизарно-тиреоидный статус организма и взаимосвязь его показателей с параметрами белкового обмена, а также с хозяйственно-полезными признаками. Опытные группы сформированы по результатам бонитировки при достижении свинками живой массы 100,00±10,00 кг. В первую группу включены животные породы дюрок (n=30), во вторую – йоркшир (n=90) и в третью – ландрас (n=15). В работе использованы биотехнологические, биохимические и статистические методы исследования. Установлено, что свинки породы дюрок, йоркшир и ландрас не имеют достоверных отличий по уровню Т3 и ТТГ в крови, содержание гормонов колеблется в интервале 7,60±0,12 - 8,61±0,28 пмоль/л и 0,02±0,001 - 0,03±0,004 мкМЕ/мл, соответственно. Ландрасы превосходят дюрков и йоркширов по концентрация Т4 на 27,41 и 28,91% (p≤0,05). Однако скорость биоконверсии тиреоидных гормонов, оцениваемая по величине Т3/Т4, у дюрков и йоркширов выше, чемуландрасовна 47,37 и 31,58% (p≤0,05); величинасоотношенийТТГ/Т3, ТТГ/Т4 и ТТГ/Т3+Т4, наоборот, преобладает у ландрасов. Уровень белковых параметров в крови ремонтных свинок достоверно не зависит от породы. Концентрация общего белка, альбуминов, глобулинов и Alb/Gl-коэффициент колеблется в интервале, соответственно, 63,73±0,72 - 65,99±0,51, 28,56±0,34 - 29,23±0,67, 34,47±1,12 - 37,43±0,61 г/л и 0,76±0,02 - 0,86±0,04 усл. ед. Концентрация мочевины в крови дюрков и йоркширов превышает уровень ландрасов на 9,02 - 9,28%. У дюрков связь гормонов с параметрами белкового обмена, оцениваемая с помощью корреляций, максимально выражена в паре признаков Т3 – мочевина (r=-0,42±0,15; p≤0,05); у йоркширов Т3 – общий белок (r=-0,31±0,10); у ландрасов Т4 – общий белок (r=-0,68±0,14; p≤0,05). Корреляции между гормонами и хозяйственно-полезными признаками у дюрков имеют максимальное значение в паре ТТГ – абсолютный прирост, отъем (r=0,52±0,13; p≤0,05), йоркширов Т4 – абсолютный прирост, отъем (r=0,51±0,08; p≤0,05), ландрасов Т4 – возраст бонитировки (r=0,66±0,15; p≤0,05).

Ключевые слова: *свинки, гипофизарно-тиреоидный статус, белки, корреляция, хозяйственно-полезные признаки.*

INTRODUCTION

During the past years, a great number of specialized breeds of animals, which were characterized by higher breeding and productive abilities in comparison with Russian ones, were imported for increasing economic efficiency of pig breeding (Kovalenko and Kovalenko, 2012). Because of imposed sanctions, the possibility to renew the genetic resource of breeding animals by importing foreign breeds lost its relevance. This fact makes major pig breeding companies increase the quality of selection and breeding by using the genetic resources they have. One of the technological methods of this work is the selection of breeds for effective cross-breeding that allows for offspring productivity increase, feeding cost cuts, stress-resistance improvement (Babushkin, 2010).

The fundamental aspect of breeding is an evaluation of replacement gilts biological status, because individual animal peculiarities are, primarily, defined by the levels of cells and tissue metabolism, that are associated with the correlation between catabolic and anabolic processes in the body and represent the basis of

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

beneficial economic features. This dependence is specified by the genes, which determine animals productive qualities, realizing their action by means of influence on physiological and biochemical processes (Leonova *et al.*, 2013).

For this reason, blood attracts the researcher's interest as an interior factor, in particular, its chemical composition, that reflects the animal's metabolism, as well as their association with exterior and productive qualities (Burnos, 2015; Dauncey and Morovat, 1993; Fomina and Derkho, 2010; Nikolaev *et al.*, 2011; Nurbekova *et al.*, 2009).

Blood plays an important role in the hormone regulation processes because biological hormone effects in the organism are related to their lifetime in the blood system. In their turn, hormones regulate animal growth and development, taking part in the realization of genetic information. For this reason, their major part performs only certain biological functions. However, in animal organisms, including pigs, endocrine glands synthesize hormones of general metabolic action. In particular, these are thyroid hormones that regulate cells status in all organs and tissues, controlling metabolism and general energy and oxygen consumption (Alidzhanova *et al.*, 2012; Balabaev and Derkho, 2016; Baltabekova and Derkho, 2016).

At present, there is a shortage of data on thyroid hormones biological effects in pigs organism and the association of their levels with exterior and interior qualities. Most of the studies focused on the influence of feeding on hormones levels (Bao *et al.*, 2015; Dauncey and Morovat, 1993; Derzhatkina, 2015; Derzhatkina *et al.*, 2016; Li, Q. *et al.*, 2012; Li, Y. *et al.*, 2017; Senin *et al.*, 2008) or mechanisms of their influence on physiological functions of the organism (Chapel *et al.*, 2017; Gregoraszczuk, 2000; Selmi-Ruby and Rousset, 1996; Sidorenko, 2012; Zhang *et al.*, 2017). For this reason, it is relevant to evaluate thyroid status of replacement gilts of different breeds in certain economic conditions.

The rationale for this study is to evaluate the influence of the breed on pituitary and thyroid status of replacement gilts and their association with protein metabolic parameters and economical beneficial features.

MATERIALS AND METHODS

The study was conducted in 2017 on the basis of “Agrofirma AriAnt, Llc” site. The object of the study was replacement gilts of the three breeds aged 160-170 days old that gained live weight of 100.00±10.00 kg. Three groups were formed after gilts assessment for phenotypes, performance, and productive parameters. The first group included Duroc pigs (n=30), the second – Yorkshires (n=90) and the third - Landraces (n=15).

The material of the study was blood, which was sampled from vena cava cranialis. The serum was obtained by common method (Kondratikhin, 2004).

Blood serum was tested for biochemical parameters: total protein, albumins, and urine by a colorimetric method with reagent kits “Vecor-Best” (Novosibirsk, Russia). Thyroid hormone, free thyroxin,and free triiodothyronine levels were identified by the immunoenzymatic assay kits “Vec-tor-Best” (Novosibirsk, Russia). Strips were incubated in temperature-controlled shaker “ELMI Sky Line Shaker ST-3” (ELMI Ltd., Latvia) with further assessment of optical density by microplate reader – “MINDRAY MR-96A Elisa Microplate Reader” (MINDRAY Ltd., PRC). Computational method was used for estimation of total globulin (Gl = TP – Alb, g/L), protein coefficient (Alb/Gl, SU), ratio TP/urine (SU), T3/T4 (SU), TSH/T3·100 (SU), TSH/T4·1000 (SU), where TP – concentration of total protein, g/L; Alb – albumins level, g/L; T3 – concentration of free triiodothyronine, pmol/L; T4 – concentration of free thyroxin, pmol/L; TSH – concentration of thyreotropin, μIU/ml; 100 and 1000 – normalizing coefficient.

Statistical analysis included estimation of average values and their mean errors, calculation of the feature variation coefficient and correlation coefficients, defining of the mean product of standardized deviations on each feature by the “analysis package” application for Microsoft Excel. Correlation matrixes were formed for the calculations (the calculation result for correlations of one type for each pair from the numerous P variables, measured in a quantitative scale in one sampling). The analysis of the obtained data was performed by Student’s t-test. Statistical hypothesis testing was done by the critical level of significance $p \leq 0.05$.

RESULTS

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Thyroid hormone synthesizing function in pigs depends on the age and physiological condition (Senin *et al.*, 2008). It is suggested that the breed influences on thyroid hormone secretion in animals.

Comparative analysis on hormone level (TSH, T3, T4) in the blood of Duroc, Yorkshire and Landrace replacement gilts allowed the authors to identify the following peculiarities of their pituitary and thyroid.

Replacement gilts TSH levels were not significantly different. TSH biological activity defines the functional activity of thyroid due to its interaction with cells membrane receptor domains (Chatterjee *et al.*, 2001; Rodriguez and Jolin, 1991; Squires, 2010). The concentration of this hormone in animals blood (Table 1) varied in the range of 0.02±0.001 – 0.03±0.004 µIU/ml. At the same time, the feature variation in the sampling barely depended on the breed and was equal to Cv=55.35 – 60.82%. Thus, the level of TSH secretion in gilts pituitary depended, primarily, not on their genotype, but on their individual peculiarities of the organism.

The results of our studies agree with other research data (Gabitova, 2009). The authors also highlighted that normal TSH level in gilts blood varied from 0.02 to 0.05 µIU/ml.

There were no statistically significant differences between gilt breeds triiodothyronine levels. However, Landraces levels exceeded Yorkshire levels in T4 levels by T4 27.41% and 28.91% ($p \leq 0.05$). At the same time, gilts blood thyroxin levels exceeded T3 levels by more than 3.59 times, regardless of the breed (Table 1).

The obtained data allowed the authors to state that free triiodothyronine in replacement gilt organism had a higher metabolism rate than thyroxin. Probably, this resulted from biological effects of thyroid hormones due to T3 action, which, according to the research data (Falk, 1997), shows better affinity with target receptors than T4. To prove this hypothesis, the authors estimated the correlation between T3/T4 for indirect evaluation of triiodothyronine biosynthesis rate by thyroxin deiodination (Balabaev and Derkho, 2017; Baltabekova and Derkho, 2017; Navarro *et al.*, 1997; Shushkevich, 2009).

The T3/T4 ratio was minimal in Landraces and equal to 0.19±0.03 SU (Table 1). The ratio in Durocs and Yorkshires was higher than in Landraces by 47.37% and 31.58% ($p \leq 0.05$). Thus, thyroxin deiodination rate in gilts from groups I and II was higher than in group III and resulted from thyroid hormone synthesizing activity. According to other research data (Dezhatkina, 2015), it reflected the rate of the main metabolism in gilts organism, including carbohydrates, fats,and proteins catabolism, tissue oxygen consumption, the activity of enzymatic reactions and energy consumption.

The results of the study agree with other researchers (Gudilin and Lazareva, 2008; Sidorenko, 2012), who also stated the relation between thyroid activity, evaluated by the T3/T4 ratio, animals physiological condition and productivity level.

It is known that the biological activity of TSH is realized within the system “pituitary – thyroid”. It defines the biosynthetic activity of thyrocytes and, consequently, the level of thyroid hormones in gilts blood. For indirect evaluation of TSH influence on thyroid hormones levels, the authors defined its ratio with these hormones.

Thus, the highest ratio values of TSH/T3, TSH/T4, and TSH/T3+T4 were observed in Landraces (Table 1). Durocs and Yorkshires levels differed from the ones in Landraces by 69.56%, 26.15%, 25.49% and 56.00%, 32.26%, 23.08% ($p \leq 0.05$), respectively. Hence, the pig breed influenced the TSH biologic activity realization rate in animals, which resulted from the differences in genotype, which define the “pituitary-thyroid” system mechanism functioning rate feedback.

Thyroid hormones in animals influence the metabolism rate, especially, aerobic, which has an impact on organism energy consumption and, consequently, on animals condition. In gilts, hormone biologic effects define, primarily, the formation and establishment of physiological systems. Naturally, this is associated with activity and targeting of protein metabolism, which is directly connected with the realization of the genetic program (protein synthesis is performed according to the information, coded in the genes by the nucleotide sequences). Besides, the protein composition of the body is one of the parameters that characterize the level and target of gilts productivity (Li, Q. *et al.,* 2012; Lodyanov and Ganzenko, 2014).

The analysis of the blood protein profile showed that the breed did not influence significantly on total protein levels in the blood (Table 1). This conclusion was confirmed by the

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

feature variation value in general totality (Cv=4.89–7.44%). Hence, the availability of protein for vital processes satisfied the gilts physiological needs. Probably, this parameter was rather defined by the conditions of feeding and nutrition balance in protein and essential amino acids than by the gilts breed.

Total protein level in blood characterizes the organism provision in proteins with protein substrates. At the same time, total protein in blood represents the sum of all proteins that circulate in the blood. The main protein fractions are albumins and globulins, which differ significantly from each other in physiological functions.

Thus, being highly hydrophilic, albumins take part in the regulation of water balance, maintenance of osmotic pressure and blood viscosity, and perform transport functions. They are important plastic material and, when necessary, can be used for energetic consumption as a source of free amino acids (Lodyanov and Ganzenko, 2014; Sereda and Derkho, 2014; Li, Y. *et al., 2017)*.

Replacement gilts breed did not influence significantly on albumins levels in the blood (Table 1). In other words, the animals were characterized by similar albumin synthesizing activity of hepatocytes (Table 1). Based on the fact that blood albumins transport not only low-molecular compounds but also cover the cells and tissues needs in amino acids, being their depot (Gorelik, 2015), it is suggested that growth and development processes in replacement gilts are provided by the plastic material.

Although the gilts globulins levels were not significantly different (Table 1), their levels were the highest in Yorkshire blood (37.43±0.61 g/L; Cv=15.44%), and the lowest in Landraces (34.47±1.12 g/L; Cv =12.63%). Since globulins mainly consist of protective proteins, it can be stated that Yorkshires exceeded their analogs in immune protection status.

In test groups, albumin and globulin levels in gilts blood defined the protein coefficient, which varied within the range from 0.79 to 0.87 SU (Table 1).

Urine is the main degradation product of proteins. It is produced by the liver from ammonia and is excreted by kidneys (Volkova, n.d.). The breed influenced on the urine level in replacement gilts, but not significantly. The lowest levels were observed in Landraces blood (3.76±0.24 mmol/L; Cv=24.82%). The levels in Durocs and Yorkshires exceeded the ones in their analog breed Landrace by 9.02–9.28% (Table 1).

According to other research data (Glushko *et al.*, 2016), protein, contained in feed, is spent on the gilts organism needs, defined by the genetic productivity program. Due to this fact, it can be stated that replacement gilts genotype defined the uptake and excretion rate of feeding protein. These parameters were higher in Landraces than in Durocs and Yorkshires. This conclusion agreed with the value of TP/urine, which reflected the rate of protein nitrogen retention in animals.

The results of the present study agree with other researchers results (Pavlov, 2017), that showed that proteins, being genetically controlled structures, form their pool in blood and organism cells based on the protein and essential amino acids availability, limited by the genetic merit.

It is known that thyroid hormones in animals realize their biological effects due to the presence of intracellular receptor in targetcells. It is used for controlling gene activity, transcription and mRNA synthesis (Li, Y. *et al.,* 2017; Selmi-Ruby and Rousset, 1996), which influences the activity of catalytic proteins and metabolism (Baltabekova and Derkho, 2017). For this reason, the authors defined the association between thyroid hormones levels and blood protein parameters by calculating respective correlation coefficients. The analysis of these correlations showed the following results (Table 3):

1. The number of direct correlations between the Durocs features was 50.0% of the total amount, Yorkshire – 45.23% and Landraces – 42.85%. In other words, hormones in “pituitary – thyroid” system, primarily, indirectly influenced protein metabolism in gilts, which defined parameter levels in the blood.

2. The number of significant correlations between hormones, their ratios, and protein blood parameters in Durocs was only 7.15%, in Yorkshires 30.95% and Landraces 21.42% of the total amount. Hence, the gilts breed influenced the mechanism of “pituitary – thyroid” system hormones influence protein metabolism.

Thus, statistically significant correlations were identified in the following pairs of features in Durocs: T3 – TP (r=0.39±0.16), T3 – Gl (r=0.41±0.16), T3 – urine (r=-0.42±0.15). In other

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

words, biological effects of thyroid hormones realized due to triiodothyronine.

The maximal amount of significant correlation coefficients was observed in Yorkshire group. They were identified in pairs of features: T3 – TP (r=-0.31±0.10), T3 – Gl (r=-0.24±0.10), T3 – urine (r=-0.21±0.10), T4 – TP (r=-0.30±0.10), T4 – Gl (r=-0.30±0.10), T4 – Alb/Gl (r=0.26±0.10), TSH – TP (r=-0.24±0.10), TSH – Gl (r=-0.30±0.10), TSH – Alb/Gl (r=0.23±0.10), T3/T4 – Gl (r=0.21±0.10), T3/T4 – Alb/Gl (r=-0.21±0.10), TSH/T3 – Gl (r=-0.23±0.10), TSH/T3 – Alb/Gl (r=0.21±0.10). It can be seen that protein parameters in blood are regulated by triiodothyronine, thyroxine,and TSH.

In Landrace group statistically significant coefficients of correlation were identified in pairs of features: T4 – TP (r=-0.68±0.14), T4 – Gl (r=-0.57±0.17), T4 – Alb/Gl (r=0.45±0.20), T4 – urine (r=-0.48±0.20), ТТГ – urine (r=-0.47±0.20), TSH – TP/urine (r=0.52±0.19), T3/T4 – TP (r=0.70±0.13), T3/T4 – Gl (r=0.50±0.19), T3/T4 – urine (r=0.48±0.20).

According to other research data (Krasnoperov *et al.*, 2013), the correlation between hormones in hypothalamic-pituitary-thyroid system and protein blood parameters results from the influence thyroid hormones on the transcriptions of numerous genes, defining the synthesis of structural and transport proteins and other substances.

Of special interest for the breeders are correlations between blood parameters and economically beneficial features because their identification allows the breeders to increase breeding efficiency. In the present study, the authors defined correlation coefficients between the hormones (T3, T4, TSH), their ratios (T3/T4, TSH/T3, TSH/T4, TSH/T3+T4) and 34 parameters that characterize beneficial economic features. Significant correlation coefficients between the studied features are presented in Table 3.

General analysis of correlations allowed the authors to identify the following peculiarities:

1. The number of negative correlation coefficients in Durocs was 46.21% from the total amount, in Landraces – 47.89%, in Yorkshires – 47.19%. In general, the gilt breed did not influence the association of thyroid hormones levels and their correlations with the studied economic beneficial features.

It should be noted that the biggest amount of negative correlations was observed between hormones ratios (T3/T4, TSH/T3, TSH/T4, TSH/T3+T4) and exterior parameters, which indicated on the absence of prognostic significance of these parameters.

2. The general amount of significant correlations in Durocs was 24.79% from the total amount, in Landraces – 28.15% and in Yorkshires – 22.69%. Qualitative comparative analysis of correlations between the breeds did not show universal interrelations. Hence, animal genotype influenced the character of pituitary and thyroid system associations with gilts growth and development processes, defining their constitutional peculiarities.

3. Correlation coefficients ranging by their values allowed the authors to identify that in Durocs the levels of T3 had the highest correlation with the average daily weight gain postweaving (r=0.42±0.15), T4 – with the absolute weight gain postweaving (r=0.42±0.15) and chest depth (r=0.42±0.15), TSH – with absolute weight gain postweaving (r=0.52±0.13).

In Yorkshire group triiodothyronine levels were characterized by the highest value of correlation coefficient with relative weight gain postweaving (r=0.34±0.09), thyroxin – with absolute weight gain postweaving (r=0.51±0.08), TSH – body weight at weaving (r=0.36±0.09) and absolute weight gain postweaving (r=0.36±0.09).

T3 levels in Landraces were better correlated with fat depth in point R2 (r=-0.49±0.20), T4 – with assessment age (r=0.66±0.15), TSH – with absolute weight gain from birth, (r=-0.55±0.18) and Pastern girth (r=-0.55±0.18).

The obtained data showed that in Duroc and Yorkshire gilts, which have a sound constitution, pituitary-thyroid system and its hormone synthesizing activity, primarily, defined productive parameters at weaving. At the same time, hormone levels in Landraces had the highest correlation with the age of gaining 100 kg: the established hormone levels and their biologic effects in replacement gilts primarily defined fat depth in point R2 and pastern girth parameters.

CONCLUSIONS:

The following conclusions were made

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

based on the results of the study:

1. The levels of T3 in Duroc, Yorkshire,and Landrace replacement gilts blood were not significantly different and varied within the range of 7.60±0.12 – 8.61±0.28 pmol/L and 0.02±0.001 – 0.03±0.004 μIU/ml. T4 levels in Landraces were higher than in Durocs and Yorkshires by 27.41 and 28.91% ($p \leq 0.05$).

2. The relation T3/T4 that characterized hormone bioconversion rate was higher in Durocs and Yorkshires than in Landraces by 47.37 and 31.58% ($p \leq 0.05$), respectively, and the levels of TSH/T3, TSH/T4,and TSH/T3+T4, that reflect TSH biological effects rate, are higher in Landraces.

3. Protein metabolism rate in blood in replacement gilts did not depend significantly on the breed and varied within the following ranges: 63.73±0.72 – 65.99±0.51 g/L (Cv=4.89 – 7.44%), albumins 28.56±0.34 – 29.23±0.67 (Cv=8.86 – 13.26%), globulins 34.47±1.12 – 37.43±0.61 g/L (Cv=12.63-15.44%), Alb/Gl-coefficient 0.76±0.02 – 0.86±0.04 SU (Cv=19.23-30.18%). Urine levels in Durocs and Yorkshire blood were higher than in Landraces by 9.02 – 9.28%, but the difference was insignificant.

4. The number of positive and significant correlations between hormone levels (T3, T4, TSH) and their relations (T3/T4, TSH/T3, TSH/T4, TSH/T3+T4) and blood protein parameters in Durocs was 50.00 and 7.15% from the total amount, in Yorkshires – 45.23 and 30.95% and in Landraces – 42.85 and 21.42%. The highest correlation coefficient in Durocs was in the pair of features T3 – urine (r=-0.42±0.15; $p \leq 0.05$), in Yorkshire T3 – TP (r=-0.31±0.10), in Landraces T4 – TP (r=-0.68±0.14; $p \leq 0.05$).

5. The number of positive and significant correlation coefficients between the hormones (T3, T4, TSH), their relations (T3/T4, TSH/T3, TSH/T4, TSH/T3+T4) and economical beneficial features in Durocs was equal to 53.79 and 24.79% from the total amount, in Landraces – 52.11 and 28.15%, in Yorkshires – 52.81 and 22.69%. The highest features correlation was observed in Durocs in the pair TSH – absolute weight gain postweaving (r=0.52±0.13; $p \leq 0.05$), in Yorkshires in the pair T4 – absolute weight gain postweaving (r=0.51±0.08; $p \leq 0.05$), in Landraces in the pair T4 – age of assessment (r=0.66±0.15; $p \leq 0.05$).

RECOMMENDATIONS

The data, that characterizes some peculiarities of biological passport of Duroc, Yorkshire and Landrace replacement gilts, grown on “Agrofirma AriAnt, Ltd.” site and selected by the assessment for reproduction, can be used as reference data during evaluation of gilts physical condition, as well as inbreeding.

ACKNOWLEDGMENTS

The present study was conducted within the research program “Development and implementation of innovative competitive Russian technologies in genetics and animal breeding for intensive pig production” under the title “Development and implementation of innovative competitive Russian technologies in genetics and animal breeding for intensive pig production”. The number of state agreement/number of agreement for subsidy supply is 14.610.21.0018. The subsidy was received from the federal budget approved for the respective financial year and planned period within the budget assignations and budgeting responsibilities limitations, designated for Ministry of Education and Science of the Russian Federation. The data presented in this work is included into the following documents:

1. Intermediate report on the research program that included the results on evaluation of breeding animals biological status (Part 1): the description and main parameters of biological passport of breeding animals; the research program on blood parameters testing of replacement gilts used in breeding.

2. Intermediate report on the research program that included the results on breeding animals biological status evaluation (Part 2): The analysis results of replacement gilts lab tests and the description of associations between productive parameters and main parameters, that characterize biological properties of an organism.

REFERENCES:

1. Alidzhanova, I. E.; Notova, S. V.; Kiyaeva, E. V.; Miroshnikov, S. V.; Nesterov, D. V.;

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Evaluation of metabolic parameters and hormonal status under stress, *Preventive Medicine* **2012,** 13, 748.

2. Babushkin, V. A.; *Improvement of pigs productive properties based on optimization of breeding options and feeding level, PhD thesis,* VRIplem: Lesnye Polyany, 2010.
3. Balabaev, B. K.; Derkho, M. A.; Age-related peculiarities of thyroid status and protein metabolism in animals of Kazakhskaya Belogolovaya breed, *APC in Russia* **2016**, 23/3, 640.
4. Balabaev, B. K.; Derkho, M. A.; Evaluation of thyroid hormones and lipid metabolism parameters associations in replacement heifers; *APC in Russia* **2017**, 24(1), 175.
5. Baltabekova, A. Zh.; Derkho, M. A.; Age-dependent thyroid profile in kazakhskayabelogolovaya seed bulls, *APC in Russia* **2016**, 23/3, 646.
6. Baltabekova, A. Zh.; Derkho, M. A.; Metabolic effects of thyroid hormones in replacement bulls of kazakhskayabelogolovaya breed, *Journal of OGAU* **2017**, 1(63), 100.
7. Bao, Y.; Gao, C.; Hao, W.; Ji, C.; Zhao, L.; Zhang, J.; Liu, T.; Ma, Q.; Effects of Dietary L-carnosine and Alpha-lipoic Acid on Growth Performance, Blood Thyroid Hormones and Lipid Pro-files in Finishing Pigs, *Asian-Australas J. Anim. Sci.* **2015,** October, 28(10), 1465. doi: 10.5713/ajas.14.0604.
8. Burnos, A. C.; Interior parameters of store pigs feeding, *Young Scientist* **2015**, 5.2(85.2), 1.
9. Chapel, N. M.; Byrd, C. J.; Lugar, D. W.; Morello, G. M.; Baumgard, L. H.; Ross, J. W.; Safranski, T. J.; Lucy, M. C.; Johnson, J. S.; Determining the effects of early gestation in utero heat stress on postnatal fasting heat production and circulating biomarkers associated with metabolism in growing pigs, *J. Anim Sci.* **2017,** September, 95(9), 3914. doi: 10.2527/jas2017.1
10. Chatterjee, D.; Mukherjee, S.; Das, S. K.; Regulation of cholinephosphotransferase by thyroid hormone, *Biochem Biophys Res Commun.* **2001**, April, 13; 282(4), 861. (doi:10,1006 / bbrc.2001.4662).
11. Dauncey, M. J.; Morovat, A.; The study of the mechanisms mediating thyroid hormone levels increase in plasma in gilts after feeding, *J. Endocrinol.* **1993**, 139(1), 131. PMID: 8254286.
12. Derzhatkina, S. V.; Lubin, N. A.; Derzhatkin, M. E.; The effect of thyroid hormones and insu-lin in sows and piglets during protein carbohydrate mineral and vitamin soybean okara additive feeding, *Journal of Ulyanovsk Agricultural Academy* **2016**, 1(33), 46.
13. Dezhatkina, S. V.; *Physiological grounds for soybean okara and zeolite-containing marl diet in animal breeding, PhD thesis,* Kazan, 2015.
14. Falk, S. A.; Thyroid Disorders, *Clin. Chim. Acta* **1997**, 223, 159.
15. Fomina, N. V.; Derkho, M. A.; Association of free amino acids levels with meat productivity parameters in Hereford calves, *Urals Agrarian Journal* **2010**, 12(79), 51.
16. Gabitova, Z. S.; Mamtsev, A. N.; Baimatov, V. N.; Morphofunctional condition of pigs thyroid status under iodine deficiency correction, *Russian Veterinary Journal* **2009**, 4, 43.
17. Glushko, V. M.; Roschin, V. A.; Linkevitch, S. A.; Golushko, A. V.; Low protein feeding diet at pig growing and fattening, *Journal of Belaruss National Academy of Science. Agrarian Series* **2016**, 4, 100.
18. Gorelik, L. S.; *Increase of bioresource potential in laying hens "Loman-belyi" population, PhD thesis,* Ekaterinburg, 2015.
19. Gregoraszczuk, E. L.; Is thyroid hormone a modulator of estrogen receptor in porcine follicular cells? *Endocr Regul*. **2000**, September, 34(3), 151. PMID: 11074665
20. Gudilin, I.; Lazareva, L.; Hormone levels in pig blood, *Pig breeding* **2008**, 2, 27.
21. Kondratikhin, I. P.; *Methods of veterinary clinical laboratory diagnostics,* KolosS: Moscow, 2004.
22. Kovalenko, N. A.; Kovalenko, A. V.; Morphological blood parameters in stock

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

pigs of Large White breed different genotypes during adaptation to Northern Caucasus climate conditions, *Veterinary in Kuban* **2012**, 3. Available at: http://vetkuban.com/num3_20124.html. Accessed on 01/10/2018).

23. Krasnoperov, A. S.; Shkuratova, I. A.; Vereschyak, N. A.; Donnik, I. M.; Correlations between thyroid hormones levels and biochemical parameters in milking cows and beef cattle in the middle part of the Urals, *Veterinary in Kuban* **2013**, 5, 13.
24. Leonova, M. A.; Kolosov, A. Y.; Radyuk, A. V.; Bublik, E. M.; Stetyukha, A. A.; Svyatogorova, A. E.; Perspective gene-markers of agricultural animals productivity, *Young Scientist* **2013**, 12, 612.
25. Li, Q.; Mair, C.; Schedle, K.; Hammerl, S.; Schodl, K.; Windisch, W.; Influence of resource and dose of iodine on the growth and iodine levels in tissue and plasma thyroid hormones in growing pigs, *Eur J Nutr.* **2012**, 51(6), 685. doi: 10.1007 / s00394-011-0247-7.
26. Li, Y.; Li, F.; Duan, Y.; Guo, Q.; Wang, W.; Wen, C.; Huang, X.; Yin, Y.; The Protein and Energy Metabolic Response of Skeletal Muscle to the Low-Protein Diets in Growing Pigs, *J Agric Food Chem*. **2017,** October 4; 65(39), 8544. doi: 10.1021/acs.jafc.7b02461.
27. Lodyanov, V. V.; Ganzenko, E. A.; Biochemical blood parameters in specialized types of pigs; *Scientific Journal of KubSAA* **2014**, 97(03), 1.
28. Navarro, L.; Landa, A.; Valverde, R. C.; Mammary gland type I iodothyronine deoodinase is encoded by a short messenger ribonucleic acid; *Endocrinology* **1997**, 138(10), 4248.
29. Nikolaev, D. V.; Kukushkin, I. Y.; Randelin, D. A.; Morphological and biochemical properties of blood in Canadian bred pigs; *Journal of Altay State Agrarian University* **2011**, 12(86), 62.
30. Nurbekova, A. A.; Fomina, N. V.; Derkho, M. A.; Dependence of Hereford calves meat productivity on metabolism rate; *Siberian Journal of Agriculture* **2009**, 11, 61.
31. Pavlov, E. V.; *Reproductive function stimulation in boars by domain structured magnetic fields in combination with feeding additive, PhD thesis,* Belgorod, 2017.
32. Rodriguez, F.; Jolin, T.; The role of somatostatin and/or dopamine in basal and TRH-stimulated TSH release in food-restricted rats, *Acta Endocrinologica (Copenhagen)* **1991**, 125(2), 186.
33. Selmi-Ruby, S.; Rousset, B.; Analysis of the functional state of T3 nuclear receptors ex-pressed in thyroid cells, *Mol. Cell Endocrinol.* **1996,** May 17, 119(1), 95.
34. Senin, O. B.; Senin, D. O.; Goloschapov, V. G.; Histological structure and hormonal activity of thyroid and ovaries in pigs during formation of sexual function, *Journal of Kursk State Agricultural Academy* **2008**, 4, 36.
35. Sereda, T. I.; Derkho, M. A.; Evaluation of aminotransferase role in laying hens productivity, *Agricultural Biology* **2014**, 2, 72.
36. Shushkevich, N. I.; *Hormone biochemistry: handbook on medical biochemistry*, Vladimir State University: Vladimir, 2009.
37. Sidorenko, R. P.; Change of thyroid hormone activity in pigs receiving L-carnitine food additive; *Animal breeding and Veterinary Medicine* **2012**, 3(6), 13.
38. Squires, E. J.; *Applied Animal Endocrinology*; CABI Publishing, 2010.
39. Volkova, E. M.; Biochemical parameters of store pigs' blood serum; Available at: https://rep.polessu.by/bitstream/123456789/8012/1/3.pdf. Accessed on 27/12/2017.
40. Zhang, Y.; Xue, Y.; Cao, C.; Huang, J.; Hong, Q.; Hai, T.; Jia, Q.; Wang, X.; Qin, G.; Yao, J.; Wang, X.; Zheng, Q.; Zhang, R.; Li, Y.; Luo, A.; Zhang, N.; Shi, G.; Wang, Y.; Ying, H.; Liu, Z.; Wang, H.; Meng, A.; Zhou, Q.; Wei, H.; Liu, F.; Zhao, J.; Thyroid hormone regulates hematopoiesis via the TR-KLF9 axis; *Blood* **2017,** November 16, 130(20), 2161. doi: 10.1182/blood-2017-05-783043.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 1. *Gilts blood biochemical parameters*

Parameter	Breed								
	Group I Duroc (n=30)			Group II Yorkshire (n=91)			Group III Landrace (n=15)		
	X±Sx	Cv, %	min-max	X±Sx	Cv, %	min-max	X±Sx	Cv, %	min-max
T_3, pmol/L	8.61± 0.28	17.85	5.22-14.37	7.60± 0.12	15.33	5.18-12.59	7.66± 0.31	16.15	5.42-9.72
T_4,pmol/L	30.94± 1.99*1	35.36	14.76-59.12	30.58± 1.43*2	44.41	15.04-73.18	39.42± 1.57	44.92	18.71-64.17
TSH. µIU/ml	0.02± 0.002	60.50	0.003-0.053	0.019± 0.001	60.82	0.004-0.045	0.03± 0.004	55.35	0.003-0.048
T_3/T_4,SU	0.28± 0.02*1	33.48	0.10-0.51	0.25± 0.01*2	34.59	0.10-0.50	0.19± 0.03	48.82	0.10-0.43
TSH/T_3,SU	0.23± 0.03*1	66.92	0.03-0.88	0.25± 0.01*2	55.98	0.07-0.72	0.39± 0.06	61.92	0.04-0.73
TSH/T_4,SU	0.65± 0.07*1	54.08	0.18-1.44	0.62± 0.04*2	60.56	0.12-1.60	0.82± 0.16	74.04	0.06-1.97
TSH/T_3+T_4,SU	0.51± 0.05*1	50.94	0.13-0.99	0.52± 0.03*2	58.04	0.03-1.36	0.64± 0.11	68.40	0.05-1.42
Total protein,g/L	63.73± 0.72	6.26	51.4-69.2	65.99± 0.51	7.44	54.0-75.7	63.69± 0.80	4.89	60.00-64.80
Albumins, g/L	27.87± 0.70	13.26	21.33-33.42	28.56± 0.34	11.26	20.64-34.95	29.23± 0.67	8.86	24.08-32.92
Globulins,g/L	35.81± 0.92	14.19	19.51-45.10	37.43± 0.61	15.44	27.08-49.70	34.47± 1.12	12.63	27.50-40.50
Alb/Gl,SU	0.78± 0.04	30.18	0.52-1.63	0.76± 0.02	22.85	0.41-1.23	0.86± 0.04	19.23	0.59-1.18
Urine, mol/L	4.10± 0.18	24.22	2.32-5.83	4.12± 0.08	20.50	2.58-5.92	3.76± 0.24	24.82	2.32-5.55
TP/urine,SU	16.03± 0.90	30.60	0.92-27.84	16.41± 0.40	22.39	0.59-24.10	17.85± 1.13	24.58	11.67-27.84

Note: *1 - p≤0.05 between Duroc and Landrace, *2 - p≤0.05 between Yorkshire and Landrace, TP – total protein, SU – standard units, Alb – albumins, Gl – globulins.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 2. *Hormone and blood parameters correlation*

Parameter	T_3, pmol/L	T_4, pmol/L	TSH, μIU/ml	T_3/T_4, SU	TSH/T_3, SU	TSH/T_4, SU	TSH/T_3+T_4, SU
Group I Duroc (n=30)							
Total protein, g/L	0.39± 0.16*	-0.10± 0.18	0.06± 0.18	0.27± 0.17	-0.10± 0.18	0.12± 0.18	0.10± 0.18
Albumins, g/L	-0.14± 0.18	0.09± 0.18	-0.10± 0.18	-0.04± 0.18	-0.04± 0.18	-0.20± 0.18	-0.20± 0.18
Globulins, g/L	0.41± 0.16*	-0.14± 0.18	0.12± 0.18	0.24± 0.17	-0.10± 0.18	0.22± 0.17	0.20± 0.18
Alb/Gl, SU	-0.33± 0.15	0.08± 0.18	-0.10± 0.18	-0.10± 0.18	0.10± 0.18	-0.10± 0.18	-0.10± 0.18
Urine, mol/L	-0.42± 0.15*	-0.09± 0.18	-0.04± 0.18	0.01± 0.18	-0.10± 0.18	-0.03± 0.18	-0.04± 0.18
TP/urine, SU	0.08± 0.18	0.06± 0.18	0.11± 0.18	0.05± 0.18	0.12± 0.18	0.20± 0.18	0.14± 0.18
Group II Yorkshire (n=91)							
Total protein,g/L	-0.31± 0.10*	-0.30± 0.10*	-0.24± 0.10*	0.16± 0.10	-0.20± 0.10	-0.03± 0.11	-0.10± 0.11
Albumins, g/L	-0.05± 0.11	0.11± 0.10	0.12± 0.10	-0.10± 0.10	0.13± 0.10	0.08± 0.10	0.09± 0.10
Globulins, g/L	-0.24± 0.10*	-0.30± 0.10*	-0.30± 0.10*	0.21± 0.10*	-0.23± 0.10*	-0.10± 0.10	-0.10± 0.10
Alb/Gl, SU	0.13± 0.10	0.26± 0.10*	0.23± 0.10*	-0.21± 0.10*	0.21± 0.10*	0.06± 0.11	0.09± 0.11
Urine, mol/L	-0.21± 0.10*	-0.20± 0.10	-0.10± 0.11	0.05± 0.11	-0.03± 0.11	0.03± 0.11	0.03± 0.11
TP/urine, SU	0.05± 0.11	0.07± 0.10	0.01± 0.11	-0.03± 0.11	-0.04± 0.11	-0.03± 0.11	-0.04± 0.11
Group III Landrace (n=15)							
Total protein, g/L	0.37± 0.22	-0.68± 0.14*	-0.12± 0.25	0.70± 0.13*	-0.22± 0.25	0.31± 0.23	0.25± 0.24
Albumins, g/L	-0.07± 0.16	0.14± 0.25	-0.13± 0.25	-0.01± 0.26	-0.11± 0.26	-0.11± 0.25	-0.13± 0.25
Globulins, g/L	0.30± 0.23	-0.57± 0.17*	-0.01± 0.26	0.50± 0.19*	-0.09± 0.26	0.29± 0.24	0.26± 0.24
Alb/Gl, SU	-0.24± 0.24	0.45± 0.20*	-0.10± 0.26	-0.35± 0.23	-0.02± 0.26	-0.27± 0.24	-0.26± 0.24
Urine, mol/L	0.05± 0.26	-0.48± 0.20*	-0.47± 0.20*	0.48± 0.20*	-0.38± 0.22	-0.05± 0.26	-0.10± 0.26
TP/urine, SU	0.07± 0.27	0.26± 0.24	0.52± 0.19*	-0.23± 0.24	0.38± 0.22	0.21± 0.25	0.23± 0.25

Note: p≤0.05

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 3. *Significant correlations of hormones with economic beneficial features*

Parameter	Group I Duroc (n=30)			Group II Yorkshire (n=90)			Group III Landrace (n=15)		
	T_3,pmol/L	T_4,pmol/L	TSH, µIU/ml	T_3,pmol/L	T_4,pmol/L	TSH, µIU/ml	T_3,pmol/L	T_4,pmol/L	TSH, µIU/ml
Weight at birth (g)			-0.30± 0.16	-0.30± 0.10	-0.23± 0.10			-0.40± 0.22	
Weight at weaving (kg)		0.40± 0.15	0.49± 0.14	0.29± 0.10	0.50± 0.08	0.36± 0.09			
Age at weaving (days)						0.23± 0.10		0.52± 0.20	
Absolute weight gain at weaving (kg)		0.42± 0.15	0.52± 0.13	0.32± 0.09	0.51± 0.08	0.36± 0.09			
Average daily weight gain, postweaving (g)				0.23± 0.10	0.31± 0.10			-0.42± 0.22	
Relative weight gain, postweaving (%)		0.37± 0.16	0.49± 0.14	0.34± 0.09	0.45± 0.08	0.31± 0.10			
Age of assessment (early maturation), (days)					0.30± 0.10	-0.20± 0.10		0.66± 0.15	-0.48± 0.20
Live weight (kg)	-0.31± 0.16	0.37± 0.17					-0.41± 0.21		-0.54± 0.18
Absolute weight gain from the birth, kg	-0.31± 0.16						-0.41± 0.21		-0.55± 0.18
Average daily weight gain from the birth (g)	-0.40± 0.15							-0.47± 0.20	
Average weight gain from the birth (%)								0.41± 0.21	
Absolute weight gain at weaving (kg)					-0.30± 0.10	-0.20± 0.10			
Average daily weight gain, postweaving (g)	0.42± 0.15								
Relative weight gain, postweaving (%)	0.31± 0.17	0.31± 0.16							
Chest girth behind the blade bones (cm)									-0.48± 0.19
Chest depth (cm)		0.42± 0.15			0.20± 0.10				
Chest breadth (cm)		0.39±0.16				-0.20± 0.10			
Pastern girth (cm)								0.62± 0.16	-0.55± 0.18
Legs length index (%)		-0.31± 0.16							
Lengthiness index (%)								0.43± 0.21	
Chest index (%)	0.34± 0.18				0.20± 0.10	-0.20± 0.10	-0.45± 0.20		
Massiveness index (%)			0.30± 0.16					0.44± 0.21	-0.54± 0.18
Fat depth (in P1 point, mm)			0.34± 0.16	0.21± 0.10				-0.46± 0.20	
Fat depth (in P2 point, mm)		0.31± 0.16		0.25± 0.10	0.20± 0.10		-0.49± 0.20		
Fat depth (in P3 point, mm)					0.26± 0.10		-0.44± 0.21		

Note: p≤0.05

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ATIVIDADE ESPECÍFICA DO COMPLEXO BIOLÓGICO-ATIVO EM EXTRATOS DE DROGAS LÍQUIDOS DE ERVAS, ESTUDADAS EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE SECAGEM

SPECIFIC ACTIVITY OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPLEX IN LIQUID HERBAL DRUG EXTRACTS, STUDIED UNDER DIFFERENT DRYING CONDITIONS

СПЕЦИФИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ЖИДКОГО РАСТИТЕЛЬНОГО ЭКСТРАКТА ПРИ РАЗНЫХ РЕЖИМАХ ЕГО СУШКИ

LUPANOVA, Irina A.; MIZINA, Praskovya G.*; SIDELNIKOV, Nikolay I.; GULENKOV, Alexander S.

Federal State Budget Funded Scientific Institution "All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants"
7 Grin Str., building 1, 117216, Moscow, Russian Federation

** Corresponding author*
mizina-pg@yandex.ru

Received 29 August 2018; received in revised form 25 October 2018; accepted 15 November 2018

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de diferentes métodos de remoção de solventes de extração de extratos líquidos de fitoterápicos sobre sua atividade farmacológica (imunomodulação, adaptogene, antioxidante e antibacteriana). Os autores utilizaram sistemas enzimáticos biotestes *in vitro* baseados em enzimas-chave do sistema de proteção antioxidante - glutationa redutase e catalase, bem como na enzima limitante da fase terminal da fagocitose - NADPH-oxidase, que permitem identificar adaptogênicos, antioxidantes, antibacterianos e antimicrobianos. atividade imunomoduladora da BAS e estimar possíveis alterações na bioatividade dos objetos estudados. Os resultados obtidos mostraram que a temperatura de secagem dos extratos de fitoterápicos combinados líquidos não influencia significativamente na bioatividade do complexo BAS. Amostras extraídas, secas a diferentes temperaturas, possuem atividade imunomoduladora e antibacteriana. Os melhores resultados foram mostrados pelas duas amostras: 1) secas em t = 60 ± 1°C sem aplicação de vácuo, e 2) adsorvidas preliminarmente na mistura de pó como isomalte GalenIQ® e Aeroperl® 300 Pharma, e então secas à temperatura ambiente. Os materiais deste artigo podem ser úteis para especialistas em tecnologia farmacêutica, bioquímica e farmacologia. Os resultados obtidos contribuem para o desenvolvimento de novas formulações avançadas de fármacos baseadas em extratos de fitoterápicos da BAS.

Palavras-chave: extrato de drogas fitoterápicas, sistemas biotestes *in vitro*, atividade farmacológica, substâncias biologicamente ativas, enzimas limitantes.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the influence of different methods of extraction solvents removal from liquid herbal drugs extracts on their pharmacological activity (immunomodulating, adaptogene, antioxidant and antibacterial). The authors used specific enzyme biotest systems *in vitro* based on key enzymes of antioxidant protection system - glutathione reductase and catalase, as well as on limiting enzyme of phagocytosis terminal phase – NADPH-oxidase, that allow the researchers to identify adaptogene, antioxidant, antibacterial and immunomodulating BAS activity and to estimate possible alterations in bioactivity of the studied objects. The obtained results showed that the drying temperature of liquid combined herbal drugs extracts does not influence significantly on its BAS complex bioactivity. Extract samples, dried at different temperatures, have immunomodulating and antibacterial activity. Best results were shown by the two samples: 1) dried at t=60 ± 1°C without vacuum application, and 2) preliminary adsorbed on the mix of powder like excipients isomalt GalenIQ® and Aeroperl® 300 Pharma, and then dried at room temperature. The materials of this article can be useful for specialists in pharmaceutical technology, biochemistry, and pharmacology. The obtained results contribute to the development of new advanced drug formulations based on BAS of herbal

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

drugs extracts.

Keywords: herbal drugs extract, biotest-systems in vitro, pharmacological activity, biologically active substances, limiting enzymes.

АННОТАЦИЯ

Целью настоящей работы является исследование влияния разных способов удаления экстрагента из жидкого экстракта на его специфическую активность (иммуномодулирующую, адаптогенную, антиоксидантную и противомикробную). Авторы использовали специфические биотест-системы ферментов в опытах in vitro на основе ключевых ферментов антиоксидантной защитной системы – глутатионредуктазы и каталазы, а также для ограничения фермента фагоцитозной терминальной фазы - НАДФ-оксидазы, которые позволяют установить адаптогенные, антиоксидантные, антибактериальные и иммуномодулирующие активности БАВ, а также оценить изменения биоактивности исследуемых объектов. Полученные результаты показали, что температура сушки жидких комбинированных экстрактов лекарственных растений существенно не влияет на биологическую активность комплекса БАВ. Экстракты, высушенные при разных температурах, обладают иммуномодулирующей и антибактериальной активностью. Наилучшие показатели были у следующих образцов: 1) экстракт, высушенный при t = 60±1°C без вакуума; и 2) адсорбированный на смеси изомальта GalenIQ® и Aeroperl® 300 Pharma экстракт, высушенный при комнатной температуре. Материалы этой статьи могут быть полезны специалистам в области фармацевтической технологии, биохимии и фармакологии. Полученные результаты способствуют разработке инновационных лекарственных препаратов на основе БАВ экстрактов лекарственных растений.

Ключевые слова: биологически активные вещества, растительный экстракт, лимитирующие ферменты, биотест-системы in vitro, фармакофоры.

INTRODUCTION

Liquid extracts are concentrated preparations of herbal drugs, which can be used as a part of formulation for drugs production and as separate drugs. They can be produced from one or several species of medical plants (National Pharmacopoeia, n.d.; National register, 2015).

An example of such preparation is combined liquid extract obtained from *Matricaria chamomilla L.* flowers, *Calendula officinalis L.* flowers, and *Achillea millefolium L.* herb (FSP..., n.d.). 40% ethanol solution was used as an extraction solvent. This extract is used as an anti-inflammatory and wound healing drug (Baginskaya *et al.*, 2000). Therapeutic effect of the drug is associated with the contained BAS complexes: flavonoids, terpenoids, polyolefinic compounds, polysaccharides, basic character substances, etc. (Vichkanova *et al.*, 2009).

The interest and attention of specialists in herbal drugs extracts are still high, which is explained by a number of their advantages, proved the efficiency and complex impact on the organism (Ivanichkin, 2011; Mironov and Fetisova, 2013; Radtsig, 2011; Vishnyakov and Sinkov, 2013). However, it is known that liquid extracts have some weaknesses, they are badly shippable, they can form sediment at moderate temperature decrease or at partial alcohol evaporation, the temperature range at shelf-life should be 15–20°C (Chueshov, 2002; Menshutina, 2013) and they are not always convenient to use. Since they are commonly indicated for mouth rinsing, they are not suitable for some categories of patients.

Due to these facts, improvement of the pharmaceutical form “Liquid extracts” is an acute issue. For liquid extracts, this can be extraction solvent removal, the inclusion of their BAS into pharmaceuticals forms that are more convenient to use, etc. However, extraction solvent removal is associated with temperature exposure, which may result in structure and features alterations of herbal drugs BAS complexes.

The scientists in “All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Plants" (ASRIMAP) developed a biochemical method, based on specific enzyme biotest-systems, for bioactivity evaluation of BAS in vitro. Their development is based on fundamental knowledge in pharmacology and biochemistry, primarily, on the understanding of specific pharmacophores, that are related to each BAS pharmacologic group, complementary to a respective receptor, and define the type of pharmacological activity (Mineeva, 1995; Bykov *et al.*, 1997). BAS pharmacophores selectively interact with the respective targets, primarily with limiting enzymes that play an important role in biochemical processes. Limiting enzymes quickly respond to environmental changes by alterations of their activity. For the present study, the authors chose the following enzyme biotest systems in vitro: glutathione reductase (GR) in combination with catalase (CAT) were used for identification of adaptogene, antioxidant and antibacterial activity, and NADPH-oxidase was used for identification of immunomodulating activity of the studied objects.

The purpose of the present study is to evaluate the influence of different methods of extraction solvent removal from liquid herbal drug extract on their bioactivity (immunomodulating, adaptogene, antioxidant and antibacterial), using NADPH-oxidase, glutathione reductase and catalase specific enzyme biotest systems in vitro for further use of dry extract of BAS complex as a part of new drug formulations that will allow to expand their therapeutic indications.

MATERIALS

The following objects of the study were chosen:

- liquid aqueous alcoholic extract from *Matricaria chamomilla L.* flowers, *Calendula officinalis L.* flowers, and *Achillea millefolium L.* herb (further in the text called liquid extract, No. O5), produced according to the regulatory document ND 42-0171-1463-01 (FSP..., n.d.);

- samples of dried liquid extract under different drying temperatures:

- O1 – at room temperature;
- O2 – 30±1°C;
- O3 – 45±1°C;
- O4 – 60±1°C;
- O6 – dried at room temperature on the excipients mix of SmartEX® and Aeroperl® 300 Pharma*;
- O7 – dried at room temperature on the excipients mix of isomalt GalenIQ® and Aeroperl® 300 Pharma;

- specific enzyme biotest systems in vitro, developed in ASRIMAP (Bykov *et al.,* 2001a, 2001b, 2002a, 2002b), which are a part of ASRIMAP Biologic collection of specific enzyme biotest systems in vitro (BC-SEBTS);

- prothymosin-α – thymic hormone, natural immune activator, manufactured by Merck (Germany).

NADPH-oxidase was received from quiet polymorphonucleocytes from peripheral rabbit blood, obtained during the experiment (Lupanova, 2011).

The following reagents were used:

- NADPH, oxidized glutathione, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) and highly purified enzymes glutathione reductase and catalase, produced by Sigma-Aldrich (USA);

- hydrochloric acid marked ACS, Sodium phosphate and Potassium Phosphate, Potassium chloride and Magnesium chloride, Hydrogen peroxide – (Reachim).

METHODS

BAS immune modulating activity was studied by the influence on the limiting enzyme activity in the terminal stage of phagocytosis – NADPH oxidase (Popova *et al.*, 1999) by the change of optical density of the tested solutions at the wavelength of 340 nm and at 24°C by means of biochemical analyzer Clima MC-15 (Spain).

Adaptogene, antioxidant and antibacterial activity was studied by means of biochemical analyzer Clima MC-15 (Spain) using complex specific biotest system in vitro, based on key enzymes of antioxidant protection system - glutathione reductase and catalase, that allow the researchers to obtain objective results (Brodova, 2003; Bushueva *et al.*, 2016; Daniels *et al., 1994;* Dubinskaya *et al.*, 2013; Kolkhir *et al.*, 2012; Popova, 2000).

Glutathione reductase reaction rate was measured by the decrease of optic density at 340 nm wavelength due to NADPH oxidation by an equimolar amount of reduced glutathione. To

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

measure the catalase reaction rate, the authors used the method, based on hydrogen peroxide capability to form a stable colored complex compound with Molybdenum salts, to evaluate hydrogen peroxide concentration decrease during the reaction in the tested solution by means of biochemical analyzer Clima MC-15 (Spain) at the respective optical filter.

Statistical analysis of the obtained data was conducted at normal distribution of values in the samplings (in 5 replications), arithmetic mean and error of the mean (M±m) was calculated. The significance of differences between the samplings was estimated by Student's t-test (Bushueva *et al.*, 2016). The differences between the samplings were considered significant at $p<0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

The study of immunomodulating activity in vitro

For comparative quantitative estimation of the direct activating influence of the studied compounds on NADPH-oxidase reaction rate in vitro, the authors compared reactions rates, obtained in the mentioned samples, with the NADPH-oxidase reaction rate in the sample, that contained natural immunostimulator prothymosin α, taking it as 100% (Khabriev, 2005).

The results of the estimation of the direct influence of the studied samples on the rate of NADPH-oxidase reaction in vitro are shown in Table 1.

As it is seen from Table 1, the control sample did not contain BAS, and its NADPH-oxidase reaction rate was equal to 0. When prothymosin-α was added into inactive leukocytes homogenate, NADPH-oxidase reaction was activated. NADPH was oxidized at 44.2 nmol/min for 10μl of homogenate, which was taken as 100%.

When extract samples that were dried under different conditions (No. O1 - O4, O6, O7) were added, they expressed mild activating influence on NADPH-oxidase, which proved immunostimulating properties of these objects. The maximal immunostimulating effect was shown by the sample No. O4, that was dried at t=60±1°C in both concentrations, and the samples No. O6 and O7 dried in 6.6 μl/ml concentration.

The study of adaptogene, antioxidant and antibacterial activity in vitro

The study is based on the fact that GR is activated when adaptogens and antioxidants are added. Adaptogens, unlike antioxidant BAS, express antibacterial effect. Thus, testing of substances in vitro with GR in combination with CAT reaction allows the researchers to identify adaptogens selectively that activate GR and inhibit CAT. Antioxidants increase GR reaction rate but do not inhibit CAT reaction.

The results of the evaluation of the direct influence of test samples on the rate of glutathione reductase and catalase reactions in vitro are shown in Table 2.

The measurement of GR and CAT reactions rate at the presence of extract samples (Table 2) showed that the sample, dried at t=60±1°C, liquid extract and 2 samples of extracts, dried with excipients, barely reduced the GR reactions rates and inhibited CAT reactions in vitro, expressing moderate antibacterial effect. The sample No. O7, dried on the mix of excipients isomalt GalenIQ® and Aeroperl® 300 Pharma, showed dose-dependent effect.

CONCLUSIONS:

1. The temperature of drying of a liquid extract made from *Matricaria chamomilla L.* flowers, *Calendula officinalis L.* flowers, and *Achillea millefolium L.* herb has no significant influence on the bioactivity of its BAS complex.

2. Extract test samples, dried at different temperatures (7 samples), showed moderate immunomodulating and antibacterial activity.

3. The best results on specific activity were shown by test extract samples, dried at 60±1°C (No. O4), and test samples No. O7 (extract, dried on the mix of excipients isomalt GalenIQ® and Aeroperl® 300 Pharma).

4. The obtained results contribute to the implementation of herbal drugs BAS complexes from dry extracts into the development of solid pharmaceutical forms of new advanced drugs, based on the BAS of herbal drugs extracts, for expansion of therapeutic indications.

REFERENCES

1. Baginskaya, A.; Kolkhir, V.; Leskova, T.; Rotocan – anti-inflammatory and wound healing drug. Chemistry, Technology,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Medicine, *Works of All-Russian Scientific and Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants.* **2000**, 292.

2. Brodova, M. S.; *Study of phytopreparations and evaluation of their quality by specific enzyme biotest systems in vitro, PhD thesis,* Moscow, 2003.
3. Bushueva, G.; Strelkova. L.; Kondakova. N.; The study of bioactivity of *Xanthium strumarium* dry extract and some fractions by specific enzyme biotest systems in vitro. *Issues of biological, medical and pharmaceutical chemistry* **2016**, 6, 25.
4. Bykov, V.; Dubinskaya, V.; Mineeva, M.; Rebrov, L.; Kolkhir, V.; *Patent No. 2181890. Method of identification of substances with adaptogene properties, in vitro.* **2001a**.
5. Bykov, V.; Dubinskaya, V.; Mineeva, M.; Rebrov, L.; Kolkhir, V.; *Patent No. 2181891. Method of identification of substances with anti-bacterial and anti-viral properties in vitro.* **2001b**.
6. Bykov, V.; Dubinskaya, V.; Mineeva, M.; Rebrov, L.; Kolkhir, V.; *Patent No. 2181892. Method of identification of substances with antioxidant properties, in vitro.* **2002a**.
7. Bykov, V.; Mineeva, M.; Dubinskaya, V.; *Primary biochemical screening of substances with adaptogene activity. Biomedical technologies,* Moscow, 1997.
8. Bykov, V.; Mineeva, M.; Popova, N.; Patent No. 2194077. *Method of identification of substances with potential immune modulating activity in vitro by means of NADPH oxidase test system.* **2002b**.
9. Chueshov, V. I.; *Drugs manufacturing processes,* MTK-Books: Kharkov, 2002.
10. Daniels, R.; Elmore, M.; Hill, M.; Shimuzu, Y.; Priming of the oxidative burst in human neutrophils by physiological agonists or cytochalasin B results from the recruitment of previously non-responsive cells, *Immunology* **1994**, 4, 465.
11. Dubinskaya, V.; Polyakov, N.; Efremov, A.; Efremov, E.; Evaluation of bioactivity of essential oils by biotest system in vitro, *Chemistry of herbal drugs crude resources* **2013**, 3, 149.
12. FSP 42-0171-1463-01. Liquid extract Rotocan.
13. Ivanichkin, S. A.; Peculiarities of local treatment of inflammatory diseases of ENT organs in kids, *Issues of Pediatrics* **2011**, 10(6), 72.
14. Khabriev, R. U.; *Guidelines on experimental (preclinical) studies of new pharmaceutical substances,* Meditsina: Moscow, 2005.
15. Kolkhir, V.; Strelkova, L.; Sokolskaya, T.; Application of specific enzyme biotest systems in vitro for evaluation of bioactivity of some natural compounds, *Issues of biological, medical and pharmaceutical chemistry* **2012**, 1, 172.
16. Lupanova, I. A.; *Study of molecular mechanisms of action of biologically active substances on the example of triterpene and flavonoid glycosides, PhD thesis,* Moscow, 2011.
17. Menshutina, N. V.; *Innovative technologies and equipment for pharmaceutical industry*, Binom: Moscow, 2013.
18. Mineeva, M. F.; Primary biochemical screening of pharmacologically active substances, extracted from herbal drugs, *Materials of the 2nd Russian National Congress "Humans and Drugs"* **1995**, 229.
19. Mironov, S.; Fetisova, A.; The condition of Russian pharmaceutical herbal drugs market for prevention and treatment of inflammatory diseases of oral cavity, *Health and Education in XXI century* **2013**, 15(1–4), 385.
20. National Pharmacopoeia. 8th edition. GPA.1.4.1.0021.15. Extracts.
21. National register of medicinal herbs of Russian. 2015. Available at: https://www.rlsnet.ru. Accessed on 04/10/2017.
22. Popova, N. B.; *Development of NADPH oxidase based test-system for identification of immunomodulators, PhD thesis,* Moscow, 2000.
23. Popova, N.; Stikhinin, V.; Mineeva, M.; Bykov, V.; Application of enzyme NADPH oxidase system in vitro for primary screening of phagocytosis activators among herbal drugs, *Biomedical technologies* **1999,** 11, 62.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

24. Radtsig, E. Y.; Herbal drugs for symptomatic treatment and prevention of oral cavity inflammations in kids, *Issues of Pediatrics* **2011**,10(5), 88.
25. Vichkanova, S.; Kolkhir, V.; Sokolskaya, T.; *Herbal drugs,* ADRIS: Moscow, 2009.
26. Vishnyakov, V.; Sinkov, E.; Modern drugs in treatment of patients with inflammatory throat diseases, *Russian Medical Journal* **2013**, 11, 587.

Table 1. *The influence of test samples on the NADPH-oxidase reaction rate in vitro*

Test sample	**NADPH-oxidase reaction rate, M±m**	
	nmol/min per 10 µl of homogenate	**%**
Control	0	0
Prothymosin-α	44.2±2.08	100.0
O1 3.3 µg/ml	7.6±0.33*	17.3
O1 6.6 µg/ml	7.87±0.32*	17.8
O2 3.3 µg/ml	7.29±0.28*	16.5
O2 6.6 µg/ml	7.07±0.30*	16.0
O3 3.3µg/ml	7.51±0.35*	17.0
O3 6.6µg/ml	7.43±0.36*	16.8
O4 3.3µg/ml	8.18±0.34*	18.5
O4 6.6µg/ml	7.91±0.34*	17.9
O5(10 µl)	7.78±0.37*	17.6
O5(20 µl)	6.94±0.33*	15.7
O6 3.3 µg/ml	7.47±0.33*	16.9
O6 6.6 µg/ml	7.96±0.39*	18.3
O7 3.3 µg/ml	7.69±0.35*	17.4
O7 6.6 µg/ml	8.27±0.40*	18.7

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 2. *The influence of the test samples on the glutathione reductase and catalase reactions in vitro*

Test sample	Reaction rate, M±m			
	Glutathione reductase		Catalase	
	µmol/ (min/mg of protein)	%	µmol/ (min/mg of protein)	%
Control	2.98±0.136	100	0.140±0.0068	100
O1 3.3 µg/ml	2.96±0.135	99.3	0.144±0.0065	102.9
O1 6.6 µg/ml	2.98±0.146	100.1	0.148±0.0071	105.7
O2 3.3 µg/ml	2.87±0.121	96.4	0.135±0.0066	96.2
O2 6.6 µg/ml	2.85±0.130	95.8	0.138±0.0059	98.8
O3 3.3µg/ml	2.81±0.135*	94.3*	0.137±0.0065	98.4
O3 6.6µg/ml	2.78±0.136*	93.2*	0.107±0.0053*	76.6*
O4 3.3µg/ml	2.62±0.118*	87.8*	0.106±0.0049*	75.7*
O4 6.6µg/ml	2.58±0.121*	86.4*	0.102±0.0043*	73.2*
O5(10µl)	2.63±0.118*	88.3*	0.108±0.0047*	77.3*
O5(20µl)	2.61±0.117*	87.5*	0.107±0.0052*	76.5*
O6 3.3 µg/ml	2.77±0.130*	93.0*	0.110±0.0052*	79.0*
O6 6.6 µg/ml	2.68±0.115*	90.1*	0.110±0.0051*	78.8*
O7 3.3 µg/ml	2.73±0.126*	91.7*	0.106±0.0050*	75.4*
O7 6.6 µg/ml	2.60±0.108*	87.3*	0.102±0.0049*	73.1*

*Note: here and further * - statistically significant difference from the control sample at p<0.05.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIOXIDANTE DA CURCUMINA DURANTE ESTOCAGEM DE BIODIESEL COMERCIAL PRODUZIDO COM ÓLEO DE SOJA E SEBO BOVINO

ASSESSMENT OF ANTIOXIDANT ACTION OF CURCUMIN DURING STORAGE OF COMMERCIAL BIODIESEL PRODUCED FROM SOYBEAN OIL AND BEEF TALLOW

SANTOS, Mikaelly Nayara[1*]; DE SOUZA, Eliane Ferreira[1]; FIORUCCI, Antonio Rogério[1]; DA SILVA, Margarete Soares[1]

[1] Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais, CP 351.79804-970, Dourados - MS, Brasil

** Autor correspondente*
e-mail: mikaellynayara@hotmail.com

Received 06 November 2018; received in revised form 15 November 2018; accepted 16 November 2018

RESUMO

O biodiesel surgiu como uma fonte alternativa aos combustíveis fósseis. No Brasil, para se atribuir boa qualidade ao biodiesel, quanto à estabilidade à oxidação, é necessário que o mesmo apresente um mínimo de 8 h para o Período de Indução (PI), determinado à temperatura de 110 ^{0}C pelo método de Rancimat, de acordo com a resolução nº 45/2014 da ANP. Como, na maioria dos casos, o biodiesel produzido não atende a padrões estabelecidos de estabilidade oxidativa, é necessário adicionar antioxidantes, que retardam seu processo oxidativo. Dessa forma, esse trabalho propõe um estudo sobre a ação da curcumina, um antioxidante natural, em biodiesel comercial que foi produzido a partir da mistura de 80% óleo de soja e 20% sebo bovino. Neste estudo, as amostras ficaram estocadas durante 180 dias a 43 ^{0}C, de acordo com a norma ASTM D4625. Foi possível observar que a curcumina garantiu maior estabilidade oxidativa ao biodiesel e menores valores de índice de acidez, durante o período de estocagem. Estudos cinéticos indicaram que a amostra aditivada com curcumina apresentou maior valor de energia de ativação para o processo de degradação oxidativa, demonstrando que a adição deste antioxidante natural torna o biodiesel mais resistente à oxidação.

Palavras-chave: Rancimat, Estudo cinético, Índice de acidez.

ABSTRACT

Biodiesel has emerged as an alternative source to fossil fuels. In Brazil, to assign a good quality to biodiesel, regarding oxidation stability, it is necessary that the biodiesel shows a minimum of 8 h of induction period (IP), determined at a temperature of 110 ºC by the Rancimat method, in accordance with Resolution No. 45/2014 of ANP. As, in most cases, the biodiesel produced does not meet the established standards of oxidation stability, it is necessary to add antioxidants, which slow down the oxidative process. Thus, this paper proposes a study on the action of curcumin, a natural antioxidant, on commercial biodiesel produced from blending 80% soybean oil and 20% beef tallow. In this study, samples were stored for 180 days at 43 ºC, according to ASTM D4625 recommendations. It was possible to observe that curcumin ensured greater oxidation stability to biodiesel and lower acid number values during the period of storage. Kinetic studies showed that samples with the addition of curcumin showed the highest value of activation energy for the oxidative degradation process, demonstrating that adding this natural antioxidant makes biodiesel more resistant to oxidation.

Keywords: Rancimat, Kinetic study, Acid number.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUCTION

Emerging as a sustainable alternative to fossil fuels, biodiesel has features such as being biodegradable, nontoxic, with a boiling point higher than diesel, free of sulfur and aromatics. In addition, it can be produced using low-cost raw materials, thus bringing economic and environmental benefits (Kumar *et al.*, 2018; Leonardo *et al.,* 2012).

Despite its advantages, biodiesel is more susceptible to oxidative degradation than petroleum diesel. Therefore, to ensure biodiesel quality, a minimum of 8 hours of Induction Period (IP) is fixed to the oxidation stability parameter at a temperature of 110 ºC, according to the Resolution No. 45 of 2014 of ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (Oliveira *et al.,* 2014).

In Brazil, the largest source of raw material for biodiesel production has been soybean oil; however, biodiesel can be produced from different sources of vegetable oils and animal fats. Nevertheless, few studies have been performed regarding biodiesel production using animal fats. Beef tallow is a waste generated in industries during the processing of animal meat that can be used in biodiesel production as a low-cost raw material, and its re-use contributes to sustainable development (Banković-Ilić *et al.*, 2014).

Biodiesel production from beef tallow confers high oxidation stability, since esters that constitute this biodiesel feature less content of double bonds than biodiesel from vegetable oils such as soybean; however, has the disadvantage of forming crystals at lower temperatures. For this reason, blends have been used with different percentages of biodiesel of soybean oil and beef tallow, minimizing the disadvantages of these raw materials and leading to a biodiesel with improved oxidation stability-related properties (Oliveira *et al.,* 2012 and Cremonez *et al.,* 2016).

The oxidative process of biodiesel can be accelerated by several factors such as temperature, light, oxygen, contamination by metals, among others. As the temperature is one of the factors affecting oxidation stability, kinetic studies are performed regarding degradation in order to monitor the oxidative process at high temperatures. These studies can be performed by accelerated oxidation test by the Rancimat method. In this case, the IP is determined at different temperatures. From the IP values obtained by the Rancimat method, for each trial, graphs are constructed from the Arrhenius equation, which provides the value of activation energy (Ea) for the oxidative degradation process of biodiesel. The higher the value of Ea, the more resistant to oxidative process is the biodiesel (Spacino *et al.*, 2015; Gregório *et al.*, 2018).

To meet the quality standards required for oxidation stability, the addition of antioxidants to biodiesel is usually required. Antioxidants are substances that when added in small concentrations can slow down significantly the start of oxidative reactions by removing free radicals. These antioxidants can be natural or synthetic (Tang *et al.,* 2010; Pitaro *et al.,* 2012).

Several synthetic antioxidants are already being widely added to biodiesel. However, natural antioxidants have been increasingly studied. These substances can be extracted from roots, barks, leaves, fruits, and seeds; being biodegradable and less toxic, in addition, to ensure a sustainable character to biodiesel (Taghvaei & Jafari, 2015; Varatharajan & Pushparani, 2017).

Considering the relevance of the use of natural antioxidants in biodiesel conservation and increasing use of beef tallow as part of raw material, this paper proposes a study on the action of the natural antioxidant curcumin in commercial methyl biodiesel produced from a blend of soybean oil and beef tallow, at a rate of 80/20% (m/m), during storage at 43 ºC, in accordance with ASTM D4625 standard and by kinetic studies.

MATERIAL AND METHODS

A commercial sample of biodiesel produced via methyl route from a blend of 80% soybean oil and 20% beef tallow, acquired from an industry, without the addition of synthetic antioxidants was used for the experiments.

The natural antioxidant in the study is curcumin (Neon, 97%). Reagents used were of P.A. grade or higher. All analyses were performed in triplicate and the determined values expressed as a mean and standard deviation. Statistical analyses were performed by analysis of variance (ANOVA) and Tukey Test, using the software Bioestat 5.0, considering $p < 0.05$ (Biostat, 2008).

2.1. Determination by gas chromatography

The quantification of the major esters of fatty acids in commercial biodiesel (control) was

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

performed by gas chromatography with flame ionization detector (GC-FID), according to EN 14103 of 2003 recommendation, using a Shimadzu CG2014 equipment. For determination of the retention times of the esters, the standard Supelco 37 (FAME mix) was used.

2.2 Test in oven

Two conditions were used: pure biodiesel samples (control) and samples with the addition of curcumin (curcumin) at the concentration of 7500 mg kg^{-1}. Biodiesel samples were stored in amber bottles of 300 mL, totaling 15 bottles, filled to the brim, and covered with aluminum foil to prevent the influence of light on the oxidative process. Bottles were stored in an oven at 43 ± 1 ºC, in accordance with ASTM D4625 standard, a condition in which 1 week at 43 ºC represents 1 month of storage at room temperature (ASTM D4625, 2014). The storage period in the oven was 180 days, and analyses were performed immediately after preparation of samples (addition of an antioxidant to biodiesel) and after 30, 90, 120 and 180 days. In addition, a weekly rotation of the bottles was performed to ensure that every sample had the same influence of the conditions in the oven.

2.2.1 *Assessment of oxidation stability*

The oxidation stability was determined by the Induction Period (IP) using the equipment for analysis of Oxidation Stability Metrohm, model Professional Biodiesel Rancimat 893, according to the European standard EN 14112. In this method, 3.0 g of the sample is measured, using analytical, and placed in the reaction tubes that are placed in the heating block of the Rancimat equipment. Samples are analyzed under a constant air flow of 10 L h^{-1}, at a temperature of 110 ºC, and their respective volatile products are collected in containers containing 50 mL distilled and deionized water, and the conductivity was constantly monitored. The IP was determined by water conductivity versus time curve, by StabNet software, using the second derivative method.

The equipment tubes and connections were rigorously cleaned between each series of measurements, with Extran™ detergent, indicated for such analyses, and subsequently rinsed with ethyl alcohol and distilled water. Clean materials were dried in an oven at 55 ºC, according to manufacturer's guidelines (Methohm, 2014).

2.2.2 *Analyses of physicochemical indexes*

In these tests were performed analyses of Acid Number (AN) and Iodine Number (IN), following the ASTM D664 and EN 3961 methods, respectively, using a potentiometric titler Titrino Plus 848 (Metrohm).

For determination of Acid Number, 20 g of sample were used, since the acidity expected was between 0-1 mg kg^{-1}; dissolved in a mixture of solvents (toluene, isopropyl alcohol and water (50/49.5/0.5% v/v/v) and titrated with KOH solution 0.1 mol L^{-1} in isopropanol, standardized with benzoic acid (Sigma-Aldrich, ≥ 99.9%).

For the Iodine Number, 0.13 g of sample were used, since the expected value was between 100-150 g I_2/100g. The titration was performed with sodium thiosulphate solution (Synth) and standardized with potassium iodate (Dinâmica).

2.2.3 *Absorption spectroscopy in the UV-Vis*

The analyses were performed using a spectrophotometer Hitachi, model U-3000, with spectra scanning from 200 to 800 nm, in a quartz cuvette with 1 cm optical path. Samples were diluted in dichloromethane, in the proportion of 60 µL of the sample for 3000 µL of the solution.

2.3 *Kinetic study*

For the kinetic study, the IP was determined using the temperatures of 110 ºC, 120 ºC, and 130 ºC, for the control sample and for the sample with the addition of curcumin. From the IP values obtained by the Rancimat, graphs of ln(IP) versus the reciprocal of absolute temperature (1/T) were built for each test following the Arrhenius equation, which provides the value of activation energy (Ea) calculated by the angular coefficient of the straight line (Dunn, 2008). The Arrhenius equation was used in this study as described according to Dunn (2008) and Savi *et al.* (2017):

$$\ln(\mathrm{PI}) = B_0 + B_1 . T^{-1}$$

Where T is the absolute temperature in Kelvin and B_0 and B_1 are constants obtained by linear and angular coefficient, respectively, of the line obtained by linear regression of the curve of ln(IP) vs. 1/T; and the kinetic constant *k* is obtained for each temperature from the inverse of the IP(k = 1/ PI (h^{-1})).

The parameter B_0 relates to pre-

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

exponential factor, A (B_o = ln A), while the parameter B_1 relates to the activation energy of the equation, Ea (kJ/mol), where Ea = R.B_1, and R is the gas constant (Savi *et al.*, 2017).

RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Characterization of commercial biodiesel by gas chromatography

Table 1 shows the data analyzed by gas chromatography of control sample of commercial biodiesel produced via methyl route from blending 80% soybean oil and 20% beef tallow. All quality parameters meet the quality parameters established.

The percentage of biodiesel conversion is the sum of the percentages of all esters. The results of this analysis indicated a 97.5% conversion for methyl biodiesel.

The parameters assessed are important to ensure the good performance of biodiesel as a fuel. For instance, high contents of glycerol can cause engine clogging, as well as decrease biodiesel stability during storage (Munari *et al.,* 2009 and Oliveira *et al.,* 2018).

3.2 Test in oven

For the test in the oven, a control sample of pure commercial biodiesel and a sample with the addition of curcumin at the concentration of 7500 mg kg^{-1} were used. Some natural antioxidants were previously added to commercial biodiesel sample under study, and in the initial investigation, curcumin showed the highest antioxidant potential (SANTOS *et al.,* 2017).

3.2.1 *Assessment of oxidation stability*

Table 2 shows the values of IP of pure biodiesel (control) and with the addition of curcumin, depending on the time of storage at 43 ºC, according to ASTM D4625 recommendation. There was no significant difference in IP as a function of time, for none of the conditions; however, there were significant differences with the addition of curcumin in relation to the control sample. Both samples attended the standards required by Resolution No. 45 of 2014 of ANP (min 8 h of IP) showing initially an IP of 8.83 h for a control sample and 12.05 h for the sample with the addition of curcumin. Therefore, there was an increase in the oxidation stability of more than 3 h of IP with the addition of the natural antioxidant curcumin.

The samples remained with IP values, as required by Resolution No. 45 of ANP (2014), until the end of the 180 days and without significant changes. Figure 1 shows that samples with the addition of curcumin were more stable during the period up to 120 days since there was a lower variation of IP.

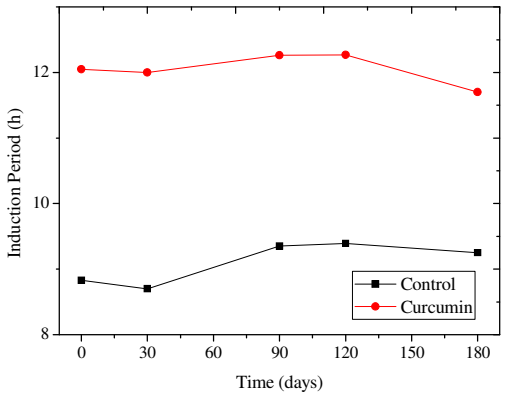


Figure 1. *Induction Period of samples in function of storage time*

Serqueira *et al.* (2015) also observed an increase in the IP of biodiesel from cotton oil with the addition of 1000 mg kg^{-1} of curcumin. This increase in the IP is assigned to the ability of curcumin to kidnap free radicals, inhibiting lipid peroxidation (Sun *et al.*, 2002; Marchi *et al.,* 2016).

It should be emphasized that the 180 days in the oven at 43 ºC correspond to approximately 2 years stored at room temperature. The control sample also showed good oxidation stability, probably due to the high presence of saturated esters derived from beef tallow (Oliveira *et al.,* 2012).

Pereira *et al.* (2017), analyzing the oxidation stability of different biodiesels without addition of antioxidants stored in steel tanks at room temperature for 250 days, observed greater stability in samples of biodiesel produced from blends of soybean oil (70-50%) with beef tallow (30-50%) when compared to biodiesel of pure soybean oil. In the same study, the authors observed that the addition of 50% beef tallow to soybean oil in biodiesel production increased oxidation stability (IP = 10.3 h) in approximately 4 h when compared to biodiesel produced only from soybean oil (IP = 6.4 h). This greater stability is probably because the beef tallow shows a higher amount of saturated fatty acids,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ensuring greater stability to biodiesel.

In study regarding the oxidation stability of biodiesel from soybean oil with addition of curcumin or beta-carotene stored at 25 ºC for 120 days, Sousa *et al.* (2014) observed that curcumin was more efficient when compared to beta-carotene, increasing oxidation stability in little more than 4 h with addition of curcumin at the concentration of 1500 mg kg^{-1}. The IP values determined were 4.97, 8.03 and 9.11 h for the pure soybean biodiesel (control) and with the addition of 1000 and 1500 mg/Kg of curcumin, respectively. The results obtained in the studies cited and in the present study indicate curcumin as an efficient natural antioxidant in improving the oxidation stability, both of biodiesel samples produced from soybean oil and blends of soybean oil and beef tallow, stored at different temperatures for long periods.

3.2.2 *Assessments of physicochemical indexes*

The Acid Number relates to the concentration of free fatty acids formed during the oxidative process in biodiesel, therefore the higher its acidity, the greater the level of degradation of the sample (Oliveira *et al.*, 2018). It is defined as the mass (mg) of potassium hydroxide required to neutralize the free fatty acids of 1 g of sample. Table 3 shows the values of AN of pure biodiesel (control) and with the addition of curcumin, throughout the period of storage at 43 ºC, according to ASTM D4625 recommendation.

The samples remained within the limit established (max 0.50 mg KOH/g). However, we can observe there was a significant increase in the AN for all samples, depending on the time of storage. Nevertheless, there was a significant difference with the addition of curcumin when compared to the control sample, with lower AN values throughout the storage period.

It is worth mentioning that Pereira *et al.* (2017) observed an increase in AN of biodiesel with the increase in the proportion of beef tallow in the blend with soybean oil used as raw material, reaching 0.30 mg KOH/g at a rate of 30/70%. In this study, blending 20% beef tallow and 80% soybean oil, we observed an AN of 0.26 mg KOH/g, and with the addition of curcumin, this index decreased to 0.21 mg KOH/g. Therefore, the addition of curcumin minimized the increased acidity caused by the higher proportion of beef tallow in the blend used as raw material in biodiesel production.

The lower AN in the sample with the addition of curcumin is related to the lower content of free fatty acids, showing lower oxidative degradation for this biodiesel sample. This result shows the efficiency of curcumin in controlling the acidity of biodiesel samples, in addition to ensuring excellent oxidation stability.

Schober & Mittelbach (2004) observed an increase in the AN of waste cooking oil biodiesel and rapeseed biodiesel with the addition of 1000 mg kg^{-1} of synthetic antioxidants Ionox 220, Vulkanox BKF, Vulkanox ZKF and DTBHQ. Considering that the AN tends to increase during storage and the maximum value established by RAMP 45 of ANP (2014) is 0.50 mg KOH/g, the results observed indicate curcumin as a more efficient antioxidant for application in biodiesel, because it decreases the AN even at higher concentration and maintains low values of AN during long periods of storage.

For the Iodine Number, the European Standard EN 14111 establishes a maximum value of 120 g I_2/100g, used as a reference in this study. Throughout the period of storage, the IN values for the pure biodiesel (control) and with addition of curcumin remained below the threshold established by the standard, without significant difference between them (Table 4).

The IN corresponds to the measure of the total number of double bonds present in biodiesel, the higher the index, the greater the number of double bonds. There was a decrease in the IN of biodiesel samples with and without the addition of curcumin at the period of 90 days (Figure 2); this might have happened due to the decrease of unsaturations in the biodiesel and formation of free radicals, which happens during the oxidative process (Ínanç & Maskan, 2014).

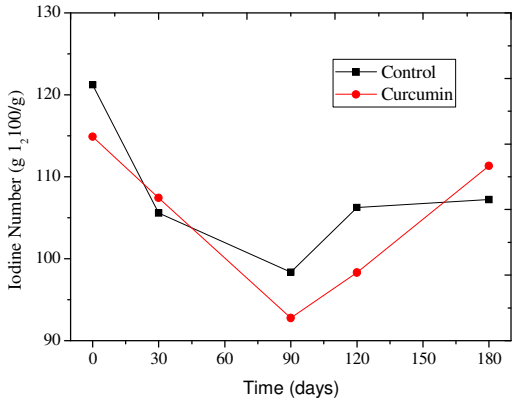


Figure 2. *Iodine Number of samples in function of storage time*

There was a decrease in the value of IN in all samples immediately after the beginning of the

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

storage period. Similar behavior was observed by Ayoola *et al.* (2016) and Kovács *et al.* (2011), which indicates a decrease in the number of double bonds and the beginning of the degradation process of samples.

With longer storage periods, the IN values increase, probably due to conjugated dienes that are also formed during oxidation of samples (Suota *et al.*, 2018). Significant differences were not observed between the two conditions (with and without the addition of curcumin) regarding this parameter.

3.2.3 *Absorption spectroscopy in the UV-Vis*

The characterization of samples by absorption spectroscopy in the UV-Vis spectra was performed during the entire period of storage in order to monitor the formation of by-products, generated from the oxidative process of biodiesel.

During the degrading process of biodiesel, there is oxidation of esters of polyunsaturated fatty acids, causing the formation of hydroperoxides and displacement of double bonds, with consequent formation of conjugated dienes, which absorb at 232 nm (Tolentino *et al.,* 2014). By the analysis of absorption spectroscopy in the UV-Vis region, it was possible to observe intense absorption in the region near 232 nm for biodiesel with and without the addition of curcumin, characteristic of formation of conjugated dienes (Figure 3).

The sample with the addition of the natural antioxidant curcumin showed lower values of absorption of conjugated dienes throughout the storage period, being more stable when compared to the control sample, as demonstrated in Figure 1 for the sample with curcumin for the IP parameter.

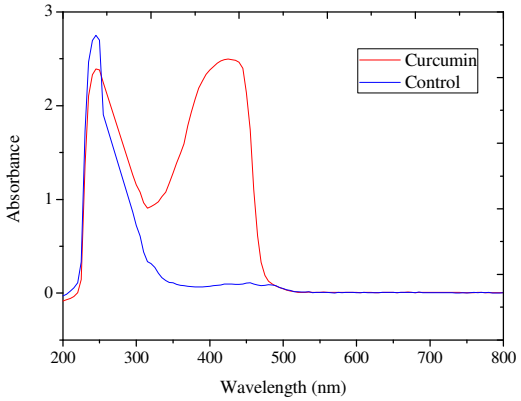


Figure 3. *Absorption spectra in the UV-VIS of samples at 180 days of storage*

The maximum absorption wavelength (λ_{max}) of curcumin is at 425 nm (Erpina *et al.*, 2017). Figure 3 shows there is absorption at this wavelength, confirming the presence of curcumin at the end of the storage period.

3.3 Kinetic Study

Figure 4 shows the results of the study at different temperatures performed by the Rancimat method for a control sample and with the addition of curcumin at the concentration of 7500 mg kg^{-1}.

From the graphs of ln(IP) vs. 1/T and using the modified Arrhenius equation, the values of Ea were obtained, corresponding to 87.74 kJ mol^{-1} for a control sample and 99.14 kJ mol^{-1} for the sample with the addition of curcumin. The highest value of activation energy for the sample with curcumin confirms that the addition of this natural antioxidant in biodiesel makes it even more resistant to the oxidative process. This indicates curcumin as an effective antioxidant even when biodiesel was stored at high temperatures.

Dunn (2008) obtained the value of Ea = 90 kJ mol^{-1} for methyl biodiesel from soybean oil. Angilelli *et al.* (2017) obtained the value of Ea = 81.03 kJ mol^{-1} for biodiesel produced with sodium hydroxide as raw material 32% soybean oil and 68% of different animal fats (beef, pork, and chicken). While Rogmanoli *et al.* (2018) found a value of Ea = 86.25 kJ mol^{-1} for commercial biodiesel from soybean oil. These values are similar to that found in this study for the control sample of biodiesel produced blending 80% soybean oil and 20% beef tallow (Ea = 87.74 kJ mol^{-1}).

Xiong *et al.* (2016), analyzing biodiesel produced from waste frying oil by the PetroOXY method, obtained the value of Ea = 94.04 kJ mol^{-1} for the control sample, reaching Ea = 97.30 kJ mol^{-1} with the addition of synthetic antioxidant pyrogallol. This suggests that the addition of antioxidants both synthetic, such as the one used in the study of Xiong *et al.* (2016), and natural, such as curcumin used in this study, increase the values of activation energy, providing biodiesel as a final product with greater oxidation stability.

Moreover, using the IP data obtained from the Rancimat equipment at different temperatures, it was performed an extrapolation of the storage time using the StabNet software for the control sample and with the addition of curcumin at two different temperatures (Table 5).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

The sample with the addition of curcumin showed greater extrapolated time of storage at both temperatures, 25 ºC, and 43 ºC, therefore it can be stored for approximately 10 years at room temperature without change in quality regarding oxidation stability. According to ASTM D4625, storage for 180 days at 43 ºC corresponds to approximately 2 years at room temperature, coinciding with the values found for the control sample on the extrapolation at 25 ºC. It is worth mentioning that the extrapolation considers only oxidative degradation and does not take into account the hydrolytic and by the action of microorganisms' degradations of the biofuel under study.

CONCLUSIONS

Curcumin was effective in slowing down the formation of free fatty acids, leading to lower values of Acid Number and lower variation in Induction Period values during storage of biodiesel. The values found during the storage period remained within the standard required by Resolution No. 45 of 2014 of ANP.

The method used for the storage test, ASTM D4625, describes that a sample stored at the temperature of 43 ºC for 1 week, is equivalent to 1 month stored at room temperature; therefore, the samples would maintain good oxidation stability for at least 2 years, if stored at room temperature.

In kinetic studies, the sample with addition of curcumin showed the greatest value of activation energy (Ea = 99.14 kJ mol^{-1}), demonstrating that, with the addition of this natural antioxidant biodiesel has become much more resistant to oxidative degradation, increasing in 4.7 times the estimated storage time at 25 ºC using the extrapolation by the Arrhenius equation.

Moreover, the blend of soybean oil with beef tallow can be considered a good raw material for biodiesel production, since soybean oil is produced on large scale in the country, while beef tallow is considered a raw material of low added value; and the commercial biodiesel studied produced by blending soybean oil/beef tallow at a rate of 80/20% showed properties in accordance with the quality parameters established by Resolution No. 45/2014 of ANP for oxidation stability and acid number.

ACKNOWLEDGMENT

The authors thank CAPES for financial support (Edital Nº 11/2009 - Pró-Equipamentos) and scholarships of MNS and ESF.

REFERENCES

1. Angilelli, K. G.; Ferreira, B. A. D.; Silva, L. R. C.; Chendinsky, T.; Borsato, D. Evaluation of the kinetic and thermodynamic parameters of oxidation reaction in biodiesel from a quaternary mixture of raw material. *Acta Scientiarum*, **2017,** *39*, 241.

2. ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Boletim Mensal do Biodiesel, fevereiro de **2016.** Disponível em: <www.anp.gov.br>. Access in January 2018.

3. ASTM D4625 Standard Test Method for Middle Distillate Fuel Storage Stability at 43 °C (110 °F) ASTM International, West Conshohocken, PA, **2014.**

4. Ayoola, A. A.; Addeyo, O. A.; Ojewumi, M. E.; Ibiye, B. P. Oxidation stability of fatty acid methyl ester under three different conditions. *Journal of Energy Technologies and Policy*, **2016,** *6*, 6.

5. Banković-Ilić, I. B.; Stojković, I. J.; Stamenković, O. S.; Veljkovic, V. B.; Hung, Y. T. Waste animal fats as feedstocks for biodiesel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **2014**, *32*, 238.

6. Biostat 2008. Available for download: https://biostat.br.uptodown.com/windows/ download

7. Cremonez, P. A.; Feroldi, M.; Oliveira, C. J.; Teleken, J. G.; Meier, T. W.; Dieter, J.; Sampaio, S. C.; Borsatto, D. Oxidative stability of biodiesel blends derived from different fatty materials. *Industrial Crops and Products,* **2016,** *89*, 135.

8. Dunn, R. O. Effect of temperature on the oil stability index (OSI) of biodiesel. *Energy & Fuels*, **2008,** *22*, 657.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

9. EN 14103 Fat and oil derivatives – Fatty Acid Methyl Esters (FAME) Determination of ester and linolenic acid methyl ester contents. European Committee for Standardization (CEN), Brussels, **2003.**

10. EN 14111 Fat and oil derivatives - Fatty acid methyl esters (FAME) - Determination of iodine value. European Committee for Standardization (CEN), Brussels, **2003.**

11. EN 14112 Fat and oil derivatives – Fatty Acid Methyl Esters (FAME) – Determination of oxidation stability (accelerated oxidation test). European Committee for Standardization (CEN), Brussels, **2003.**

12. Erpina, E.; Rafi, M.; Darusman, L. K.; Vitasari, A.; Putra, B. R.; Rohaeti, E. Simultaneous quantification of curcuminoids and xanthorrhizol in curcuma xanthorrhiza by high-perfomance liquid chromatography. *Journal of Liquid Chromatografy & Related Technologies*, **2017,** *40*, 635.

13. Gregório, A. P. H.; Romagnoli, E. S.; Borsato, D.; Galvan, D.; Spacino, K. R. Kinetic and thermodynamic parameters in biodiesel oxidation reaction in the presence of coffee leaves and sage extracts. *Sustainable Energy Technologies and Assessments*, **2018**, *28*, 60.

14. Ínanç, T.; Maskan, M. Effect of carvacrol on the oxidative stability of palm oil during frying. *Grasas y Aceites*, **2014,** *65*, 1.

15. Kovács, S.; Pölczmann, G. Y.; Hancsók, J. Investigation of storage stability of biodiesel. *Hungarian Journal of Industrial Chemistry Veszprém*, **2011,** *39*, 369.

16. Kumar, S.; Yadav, K.; Dwivedi, G. Impact analysis of oxidation stability for biodiesel & its blends. *Materials Today: Proceedings,* **2018**, *5*, 19255.

17. Leonardo, R. S.; Valle, M. L. M.; Dweck, J. An alternative method by pressurized DSC to evaluate biodiesel antioxidants efficiency. *Journal Therm Anal Calorim*, **2012,** *108*, 751.

18. Marchi, J. P.; Tedeso, L.; Melo, A. C.; Frasson, A. C.; França, V. F.; Sato, S. W.; Lovato, E. C. W. Curcuma longa L., o açafrão da terra, e seus benefícios medicinais. *Arquivos de Ciência da Saúde – UNIPAR*, **2016,** *20*, 189.

19. Metrohm. Analysis of edible oils and fats. *Application Bulletin, Suíça*, **2014**, 141.

20. Munari, F.; Cavagnino, D.; Cadoppi, A. Determinação de glicerina livre e total em biodiesel B100 conforme métodos oficiais. *Revista Analytica*, **2009,** *39*, 60.

21. Oliveira, D. M.; Vendrúsculo, V.; Fontoura, L. A. M.; Ongaratto, D. P.; Naciuk, F. F. Avaliação da estabilidade à oxidação e do ponto de entupimento de filtro a frio de biodieseis derivados de blendas de sebo bovino com óleo de soja. *Revista de Iniciação Científica da ULBRA*, **2012,** *10*, 51.

22. Oliveira, R. S.; Borges, M. F.; Vieira, A. T.; Henrique, M. A.; Ribeiro, E. A. M.; Bezerra, F. A.; Portela, F. M.; Pereira, N. R.; Assunção, R. M. N.; Ruggiero, R. Adsorção de contaminantes do biodiesel por fibras de bagaço modificadas na superfície. *Química Nova,* **2018,** *41*, 121.

23. Oliveira, R. S.; Silva, E. A.; Rodrigues, P. R. P; Souza, S. N. M. Avaliação da ação antioxidante de produtos naturais no biodiesel B100 (*Glycine max*). *Engevista*, **2014,** *16*, 410.

24. Pereira, G. G.; Garcia, R. K. A.; Ferreira, L. L.; Barrera-Barellano, D. Soybean and soybean/beef-tallow biodiesel: A comparative study on oxidative degradation during long-term storage. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **2017,** *94*, 587.

25. Pitaro, S. P.; Fiorani, L. V.; Jorge, N. Potencial antioxidante dos extratos de manjericão (*Ocimum basilicum Lamiaceae*) e orégano (*Origanum vulgare Lamiaceae*) em óleo de soja. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, **2012,**

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

14, 686.

26. Rogmanoli, E. S.; Borsato, D.; Silva, L. R. C.; Chendynski, L. T.; Angilelli, K. G.; Canesin, E. A. Kinetic parameters of the oxidation reaction of commercial biodiesel with natural antioxidant additives. *Industrial Crops & Products*, **2018,** *125*, 59.

27. Santos, M. N.; Souza, E. F.; Fiorucci, A. R.; Silva, M. S. Avaliação da estabilidade oxidativa de biodiesel comercial aditivado com antioxidantes naturais. *1º Simpósio Científico sobre Recursos Naturais – SCRN*, **2017.**

28. Savi, E. L.; Herculano, L. S.; Lukasievicz, G. V. B.; Torquato, A. S.; Baesso, M. L.; Astrath, N. G. C.; Malacarne, L. C. Evaluation of thermo-oxidative stability of biodiesel. *Energy & Fuels*, **2017**, *31*, 7132.

29. Schober, S.; Mittelbach, M. The impact of antioxidants on biodiesel oxidation stability. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **2004**, *106*, 382.

30. Serqueira, D. S.; Dornellas, R. F.; Silva, L. G.; Melo, P. G.; Castellan, A.; Ruggiero, R.; Richter, E. M.; Munoz, R. A. A. Tetrahydrocurcuminoids as potential antioxidants for biodiesel. *Fuel,* **2015,** *160*, 490.

31. Sousa, L. S.; Moura, C. V. R.; Oliveira, J. E.; Moura, E. M. Use of natural antioxidants in soybean biodiesel. *Fuel,* **2014,** *134*, 420.

32. Spacino, K. R.; Borsato, D.; Buosi, G. M.; Chendynski, L. T. Determination of kinetic and thermodynamic parameters of the B100 biodiesel oxidation process in mixtures with natural antioxidants. *Fuel Processing Technology*, **2015**, *137*, 366.

33. Sun, Y. M.; Zhang, H. Y.; Chen, D. Z.; Liu, C. B. Theoretical elucidation on the antioxidant mechanism of curcumin: A DFT study. *Organic Letters*, **2002,** *4*, 2909.

34. Suota, M. J.; Simionatto, E. L.; Scharf, D. R.; Motta, V.; Moser, D.; Oliveira, L. B.; Pedroso, L. R. M.; Wisniewski Jr, A.; Wiggers, V. R.; Botton, V.; Meier, H. F. Avaliação de características de biodieseis de fontes alternativas submetidos a condições de armazenagem diferenciada. *Química Nova*, **2018,** *41*, 648.

35. Taghvaei, M.; Jafari, S. M. Application and stability of natural antioxidants in edible oils in order to substitute synthetic additives. *Food Science and Technology*, **2013**; *52*, 1272.

36. Tang, H.; Guzman, R. C.; Simonng, K. Y.; Salley, S. O. Effect of Antioxidants on the Storage Stability of Soybean-Oil-Based Biodiesel. *Energy Fuels*, **2010,** *24*, 2028.

37. Tolentino, M. C.; Kanumfre, F.; Bersot, L. S.; Nagata, N.; Carneiro, P. I. B.; Rosso, N. D. Avaliação da estabilidade foto-oxidativa dos óleos de canola e de milho em presença de antioxidantes sintéticos. *Ciência Rural,* **2014,** *44*, 728.

38. Varatharajan, K.; Pushparani, D. S. Screening of antioxidant additives for biodiesel fuels. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **2017,** *82*, 2017.

39. Xiong, Y.; Zhou, J.; He, Q. Oxidation Kinetics of biodiesel stabilized with pyrogallol using the PetroOXY method. *Chemical Engineering Transactions*, **2016**, *51*, 313.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 1. *Quality parameters determined by gas chromatography for a sample of commercial biodiesel*

Parameters	Unit	Test Method	Thresholds	Results
Specific mass at 20 0C	kg/m3	ASTM D 4052	850 –900	882
Kinematic Viscosity a 40 0C	mm2/s	ASTM D 445	3,0 – 6,0	4,6
Water content, max	mg/kg	ASTM D 6304	200	175,4
Ester content, min.	% mass	EN 14103	96,5	97,5
Free glycerol, máx.	% mass	ASTM D6584	0,02	<0,001
Total glycerol, máx.	% mass	ASTM D6584	0,25	0,12
Monoacylglycerol, máx.	% mass	ASTM D6584	0,70	0,44
Diacylglycerol, máx.	% mass	ASTM D6584	0,20	<0,092
Triacylglycerol, máx.	% mass	ASTM D6584	0,20	0,01

Table 2. Induction Period values for samples in function of storage time

Time (days)	IP (h)	
	Control	Curcumin
0	$8,83 \pm 0,06^{aA}$	$12,05 \pm 0,16^{bB}$
30	$8,70 \pm 0,04^{aA}$	$12,00 \pm 0,13^{bB}$
90	$9,35 \pm 0,04^{aA}$	$12,26 \pm 0,14^{bB}$
120	$9,39 \pm 0,21^{aA}$	$12,27 \pm 0,09^{bB}$
180	$9,25 \pm 0,02^{aA}$	$11,70 \pm 0,02^{bB}$

Same lowercase letters in the same column or same uppercase letters in the same row are not significantly different ($p < 0.05$).

*Results are expressed as the mean ± standard deviation of triplicate experiments.

Table 3. *Acid Number of samples, depending on the time of storage*

Time (days)	AN (mg KOH/g)	
	Control	Curcumin
0	$0,2652 \pm 0,0017^{aA}$	$0,2168 \pm 0,0133^{gG}$
30	$0,2433 \pm 0,0011^{bB}$	$0,2463 \pm 0,0229^{hH}$
90	$0,2544 \pm 0,0038^{dD}$	$0,2542 \pm 0,0081^{jJ}$
120	$0,2713 \pm 0,0017^{eE}$	$0,2497 \pm 0,0070^{kK}$
180	$0,2827 \pm 0,0057^{fF}$	$0,2650 \pm 0,0075^{lL}$

Same lowercase letters in the same column or same uppercase letters in the same row are not significantly different ($p < 0.05$).

*Results are expressed as the mean ± standard deviation of triplicate experiments.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 4. *Iodine Number of samples in function of storage time*

Time (days)	IO (g I_2/100g)	
	Control	Curcumin
0	121,2 ± 1,3^{aA}	114,8 ± 3,6^{aA}
30	105,5 ± 1,0^{bB}	107,4 ± 5,5^{bB}
90	98,3 ± 5,7^{dD}	92,7 ± 10,0^{dD}
120	106,2 ± 9,8^{eE}	98,3 ± 5,9^{eE}
180	107,2 ± 3,1^{fF}	111,3 ± 2,2^{fF}

Same lowercase letters in the same column or same uppercase letters in the same row are not significantly different ($p < 0.05$).

*Results are expressed as the mean ± standard deviation of triplicate experiment

Table 5. *Extrapolation of storage time of samples*

Sample	Temperature	
	25 ^{0}C	43 ^{0}C
Control	2.30 years	0.30 years
Curcumin	10.8 years	1.11 years

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

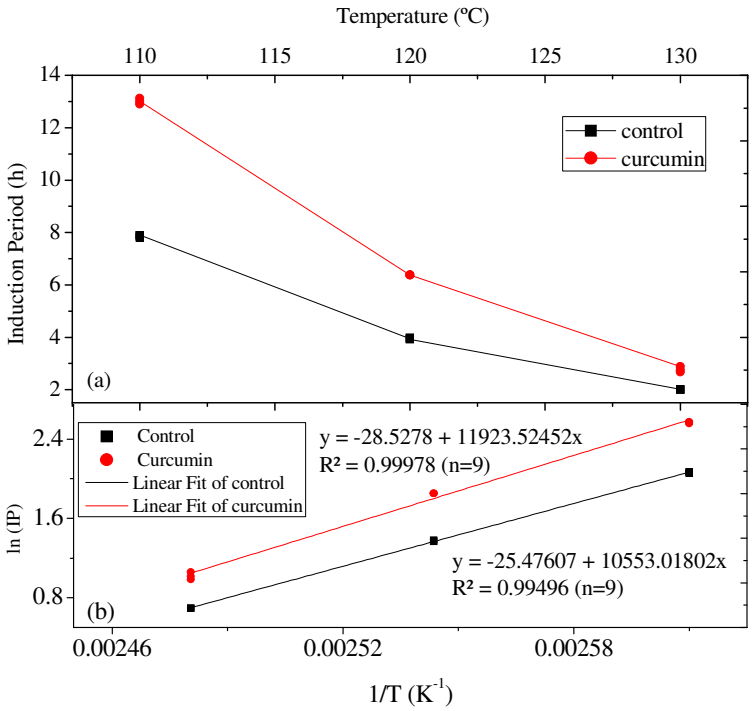


Figure 4. *Oxidation stability for a control sample and with the addition of curcumin at different temperatures: (a) IP obtained by the Rancimat method in function of temperature; (b) linear relationship of the neperian logarithm of IP and the reciprocal of the absolute temperature*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ANÁLISE DE NICHOS ECOLÓGICOS DE HORIZONTES ORGÂNICOS EM DIVERSOS ECOSSISTEMAS DE SOLO - FITOCENOSE

ANALYSIS OF ECOLOGICAL NICHES OF ORGANIC HORIZONS IN VARIOUS PHYTOCENOSIS-SOIL ECOSYSTEMS

ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКИХ НИШ НАПОЧВЕННЫХ ОРГАНОГЕННЫХ ГОРИЗОНТОВ В РАЗЛИЧНЫХ ПОЧВЕННО-ФИТОЦЕНОТИЧЕСКИХ ЭКОСИСТЕМАХ

POPOVA, Natalia Valentinovna[1]; TRIFONOVA, Tatiana Anatolieva[2*]

[1] Vladimir State University named after Alexander and Nikolay Stoletovs, Institute of Biology and Ecology, bld.1, 87 Gorky Street, Vladimir, 600000, Russian Federation
(phone: +7 4922 479 943; fax: +7 4922 479 741)

[2] Lomonosov Moscow State University, Soil Science Faculty, bld. 12, 1 Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russian Federation
(phone: +7 495 939 3641; fax: +7 495 939-09-89)

** Corresponding author*
e-mail: tatrifon@mail.ru

Received 12 June 2018; received in revised form 18 November 2018; accepted 20 December 2018

RESUMO

A resistência dos ecossistemas terrestres às influências climáticas é largamente determinada pela condição de cobertura do solo, onde o horizonte organogênico (serapilheira) desempenha um papel crucial. A interação entre resíduos vegetativos e micro e mesoorganismos é regulada pela temperatura, umidade e parâmetros físico-químicos do ambiente, que juntos formam um nicho ecológico de tal horizonte organogênico. Este trabalho tem como objetivo analisar a formação de horizontes organogênicos do solo em várias combinações de fatores bioclimáticos (nichos ecológicos) e, assim, identificar sua associação com comunidades solo-fitocenóticas - vários ecossistemas terrestres. O estudo utilizou os seguintes métodos: avaliação de especialistas, mapeamento, previsão geográfica, métodos matemáticos (correlação, dispersão, análise de regressão, método de informação estatística para avaliar a conjugação intercomponente de fenômenos e fatores) e o método taxonômico para categorizar os nichos ecológicos do solo. Foram avaliados os parâmetros quantitativos de fatores climáticos do solo (quantidade de serapilheira, t/ha, temperaturas ativas acima de 10 °C, razão de precipitação, potencial redox, mV) que afetam a formação e o desenvolvimento de horizontes orgânicos moídos. Quatro tipos de nichos ecológicos formados em vários ecossistemas da Terra foram identificados. Os resultados podem ser úteis para uma análise comparativa do funcionamento de vários ecossistemas terrestres, a escolha de métodos para a sua reabilitação e previsão de sua evolução na mudança climática.

Palavras-chave*: dinâmica do ecossistema, estabilidade do ecossistema, parâmetros climáticos, cobertura do solo, método estatístico.*

ABSTRACT

The resistance of ground ecosystems to climatic influences is largely determined by the soil cover condition, where the organogenic horizon (ground litter) plays a crucial role. The interaction between vegetative waste and micro- and meso-organisms is regulated by temperature, humidity, physicochemical parameters of the environment, which altogether form an ecological niche of such an organogenic horizon. This paper aims to analyze the formation of ground organogenic horizons in various combinations of bio-climatic factors (ecological niches) and hence identify their association with soil-phytocenotic communities – various ground ecosystems. The study used the following methods: expert assessments, mapping, geographic forecasting, mathematical methods (correlation, dispersion, regression analysis, information-statistical method for assessing the intercomponent conjugacy of phenomena and factors), taxonomic method for categorizing the ground ecological

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

niches. The quantitative parameters of soil-climatic factors (amount of ground litter, t/ha, active temperatures above 10 °C, precipitation ratio, redox potential, mV) that affect formation and development of ground organic horizons, were assessed. Four types of ecological niches formed in various ecosystems of the Earth were identified. The findings can be useful for a comparative analysis of the functioning of various ground ecosystems, the choice of methods for their rehabilitation and forecasting of their evolution in changing climate.

Keywords: *ecosystem dynamics, ecosystem stability, climatic parameters, soil cover, statistical method*.

АННОТАЦИЯ

Устойчивость наземных экосистем к климатическим воздействиям во многом определяется состоянием почвенного покрова, в функционировании которого важнейшую роль играет поверхностный органогенный горизонт. Интенсивность взаимодействия отмирающего растительного опада с живыми микро- и мезоорганизмами регулируется внешними условиями – температурой, влажностью, физико-химическими параметрами среды, которые в данной работе рассматриваются как экологическую нишу такого органогенного горизонта. Цель статьи заключается в анализе формирования напочвенных органогенных горизонтов при различных сочетаниях биологических и климатических факторов (экологических ниш), что позволило выявить их приуроченность к определенным почвенно-фитоценотическим сообществам – различным наземным экосистемам. В качестве методов исследования использованы методы экспертных оценок, картографирования, географического прогноза, математические (корреляционный, дисперсионный, регрессионный анализ, информационно-статистический метод оценки межкомпонентной сопряженности явлений и факторов), таксономический, позволяющий типизировать основные виды наземных экологических ниш. Оценены количественные параметры почвенно-климатических факторов (величина наземного опада, т/га; сумма активных температур выше 100 ℃; коэффициент увлажнения; окислительно-восстановительный потенциал, мВ), оказывающих влияние на формирование напочвенных органогенных горизонтов и появление четырех видов экологических ниш в различных экосистемах Земли.

Ключевые слова: *динамика экосистемы, информационно-статистические методы, климатические параметры, напочвенный органогенный горизонт, устойчивость экосистем, экологическая ниша*

INTRODUCTION

In any ecosystem, the detrital branch is an important link of the circulation: that is the transition from the living (green) organic matter to the mortmass to continue the geosphere cycle.

In phytocenoses, such processes mainly occur within the organic soil horizons, which perform a dual function. On the one hand, the organic matter of litter decomposes, which indicates the final stage of the green cycle. On the other hand, the decomposition products of the litter stimulate the soil formation processes. Such organic soil horizons are an integral part of any soil profile and are usually classified as genetic horizons, in spite of very little thickness in relation to the entire profile. Thus, the forest soil litter, the steppe mat, and the peat horizons can be considered as mega-forms, or large morphological units that make up the organic profile of soils. The role of litter in soil formation is difficult to overestimate: to a large extent, it determines both the morphological structure and many physicochemical properties of the functioning soil profile. As a rule, any plant succession inevitably leads to the transformation of soil as well. Therefore, the litters should be regarded as relatively independent, spatially defined organomineral horizons where plant litter, meso- and micro-organisms, and soil mineral matter are closely intertwined. Such horizons function in certain conditions that are determined by the external environment parameters where they exist (Kubiena, 1955; Bazilevich, 1965; Bazilevich *et al.*, 1968; Bazilevich, 1986; Bogatyrev, 1993).

Usually, the soil cover is the basic component in the ground ecosystem formation.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Therefore, it can be said that ecosystems are formed under the influence of similar factors: the biological ones (ground plant litter, vital activity of organisms) and the climatic ones (heat supply, wetting, environment acidity, mineral nutrition, etc.) (Bazilevich *et al.*, 1968; Tishkov, 1979; Popova, 2006; Popova, 2012). However, it is the different combinations of these parameters that determine the appearance of specific organic horizons within certain areals. (Chandler, 1941; Karpachevsky, 1983; Bogatyrev, 1993; Bogatyrev, 1996)

If the organic horizon (litter) is regarded as a relatively independent natural object, then the aggregate of external factors affecting its development can be seen as an 'ecological niche', i.e. conditions where such horizon exists. Hence the characteristics of the litter can reveal conditions of the ecosystem functioning. Respectively, the ecosystems can be represented as certain combinations of the ecological niches of different structure, complexity and stability in time and space (Evans, 1956; Orians, 1975; Svirezhev, 1978; Kolomyts, 2003; Popova, 2006).

At present, in connection with the climate change, an important issue is the ecosystem resistance to the external influences (Evans, 1956; Svirezhev, 1978; Holten *et al.*, 1993; Kolomyts, 2003; Popova, 2006). It should be assumed that the ecosystem resistance largely depends on the state of organic horizons, as part of a small biological cycle of matter and energy. The structural-functional and diagnostic properties of such horizons allow assessing the quantitative parameters of the ecosystem resistance in potentially possible variations of hydrothermal conditions and biological factors.

This work is devoted to the study of ecological niches of the basic ground ecosystems in the aspect of their differentiation depending on the acting environmental factors (Armand and Vedyushkin, 1989; Armand, 1993; Bogatyrev and Semenyuk, 1996). At that, the ecological niches are studied through the condition of the organic horizons.

The purpose of the study is a structural and functional analysis of formation of the organic soil horizons in order to classify the ecological niches and indicate the ecosystems of basic types in the view of biological (the magnitude of land litter) and climatic (heat supply, wetting, pH of the environment) factors (Svirezhev, 1978; Armand, 1986; Bazilevich, 1986; Bogatyrev and Semenyuk 1996; Kolomyts, 2003).

The following tasks were solved in accordance with the purpose of the study:

First, a geo-information database of the state of organogenic horizons was created using the authors' own materials, file materials, monographic literature and cartographic data.

Second, the influence of soil-climatic factors on formation and distribution of the organic soil horizons was assessed in various phytocenosis-soil ecosystems.

Third, ecological niches of organic soil horizons were classified based on the assessment of the relationship between the thickness characteristics of the organic soil horizon and environmental factors, and the degree of resistance of the basic ecosystems was determined.

The subject of the study is the phytocenosis-soil ecosystems, which are defined as a biogeocenoses within the boundaries of phytocenosis and characterized by the thickness of the organic soil horizon, consisting of dead remnants of plants, animals and bacteria and being in genetic relationship with both the vegetation cover and the mineral soil mass.

MATERIALS AND METHODS

The study uses the notion 'ecological niche of the organic soil horizon'. It means a certain area of a space of vital factors (biota, heat, moisture, minerals) that affect formation of the organic soil horizons in ecosystems of various types (Bazilevich, 1965; Titlyanova, 1984; Glazovskaya, 1992; Popova, 2012).

The organic soil horizon is regarded as the central biogenic object in a specific soil-cenotic ecosystem, which development and functioning is determined by a number of soil-climatic factors (the size of ground litter, heat supply, moistening conditions, environmental response). Organic soil horizons are characterized by the following properties (Kolomyts, 2003; Popova, 2012):

- *elasticity* is the litter ability to return to its initial state (to restore its structure) at various changes in the effect of factors, to maintain interrelations within the system, i.e. the ability to compensate for the influence of factors;

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

- *plasticity* is the litter ability to change under the influence of external factors, but to return to the initial state after a certain time;
- *resistance* (*inertance*) is the litter ability to change within the limits acceptable for a given areal under the influence of factors;
- *ecological optimum* is a combination of the environmental factors that ensures a natural balance, under the conditions of their natural fluctuations.

Relying in the *geo-information method*, this study used the database of the thickness of the organic soil horizons in 300 stakes (Figure 1). The following influencing factors were identified for each stake with litter stocks, known from the previous research (Popova, 2012):

- the amount of ground litter, the zoomass and the number of decomposers (G.l., c/ha);
- environment response (pH);
- redox potential (RP, mV);
- heat supply indexes ($S_{t>10°C}$);
- vegetation wetting indicators (Ku).

The relation between the litter stocks and the influencing factors (G.l., $S_{t>10°C}$, Ku, pH) was estimated by the correlation coefficient in the following form:

$$r_{xy} = \frac{\sum_{i=1}^{N} x_i y_i - N\bar{x}\bar{y}}{\left[\left(\sum_{i=1}^{N} x_i^2 - N\bar{x}^2\right)\left(\sum_{i=1}^{N} y_i^2 - N\bar{y}^2\right)\right]^{1/2}} \qquad \text{(Eq. 1)}$$

The *dispersion analysis* was used to distinguish the part determined by the influence of the studied environmental factors, from the total aggregate of indicators of the horizon thickness.

To improve the accuracy, the division of places with different litter thickness in the ecosystems of the basic climatic zones was confirmed by the *taxonomic method*. The randomization at a high scale level ensured the representativeness of the samples.

The *information-statistical method* was used to assess the inter-component contingency of various factors and litter stocks in areals and to identify the types of ecological niches (Puzachenko, 1988; Kerzhentsev, 1999; Kolomyts, 2003; Popova, 2012). The ecological niches of the organic soil horizons were classified according to the following parameters:

- intervals of litter stocks in the areals/sub-areals – the dependences of the horizon thickness on the amount of ground litter;
- niche volume per each gradient of the factor ($V, rel.$) – the number of gradations of the described factor, covered by this niche;
- niche capacity per each gradient of the factor ($P, rel.$) – the maximum value of the normalized *frequency (ratio of the indicator to the relative value)* for the considered factor (biological or climatic); such maximum value corresponds to the ecological optimum of phenomena.

The first parameter indicates the width of the homeostasis region, i.e. the range that the organic soil horizon occupies in the space of values of the considered factor. The second parameter indicates the degree of concentration of the organic soil horizon in that factor gradation where the litter occurs with the greatest probability, and which is accepted as optimal.

It was believed that the relation between the factor and the phenomenon is significant if >1. Gradations of the factor with the highest coefficient values form an ecological optimum of the niche, while the remaining gradations refer to the part influenced by random factors (the 'blurred' part of the niche). Hence *the ecological optimum of the niche characterizes the statistical norm, which corresponds to the equilibrium requirement*. Consequently, it can be assumed that when within its ecological optimum, the ecosystem is in a fairly balanced state, but the 'blurred' parts of the ecological niche characterize deviations from equilibrium, and in this respect they are of prognostic interest as values of the probabilistic 'normal' states of the ecosystem in case of the future shift of a certain parameter.

The *information-statistical method* was used to characterize and typify the ecological niches by estimating the ratios of litter stock indicators in areals with inter-component contingency of various factors. The algorithm was as follows:

(1) Determination of the number of intervals, that all values of the litter stocks of the considered areal are divided into, by the expression adopted in the probability theory:

$$K = 1 + 3.2 \lg N \qquad \text{(Eq. 2)}$$

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

where N is the number of points in the areal. The number of intervals in each areal is 5 at $\mathrm{N} = 30$.

(2) Building the matrices of joint occurrence of phenomenon A (litter stocks) in different intervals with the gradations of factors—G.l. (c/ha), $S_{t>10°C}$, Ku, pH. Determination of possible combinations of the litter stocks (A) with the gradations of factors (B).

(3) Calculation of the probabilities (frequencies) of the joint occurrence P_{ij}, where i is the repeatability of phenomenon A, and j is the repeatability of gradations of factors B.

(4) Determination of the total frequencies of occurrence of the litter stocks (A) for different gradations of factors (B) in each interval—by adding in columns. Determination of the total values of one factor gradation for the whole areal—by adding in rows.

(5) Determination of conditional probabilities (Pa_i/Pb_j) of the fact that the litter stocks in each interval have definite values for specific factor gradations.

(6) The coupling coefficient Ca_i/Cb_j was determined for each interval of litter stocks in the areal and specific factor gradations. The coefficient > 1 indicates that the coupling between the litter stocks and the factor is significant.

(7) The number of coupling coefficients > 1 characterizes the volume of the ecological niche of the areal $(V, rel.)$. The niche volume (V) shows how many factor gradations have a significant effect on litter stocks in the areal.

(8) To determine the niche capacity $(P, rel.)$, the normalized partial coupling coefficients were calculated for each factor gradation in each litter stock interval, using the formula

$$C = a_i/b_j / C(a_i/Cb_j) \qquad \text{(Eq. 3)}$$

The following methods were also used in developing the theoretical and methodological basis for this study: expert assessments, mapping, geographic forecasting, mathematical methods (correlation, dispersion, regression analysis, information-statistical method for assessing the inter-component contingency of phenomena and factors), and taxonomic method.

RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Quantitative parameters of ecological niches

The determined quantitative parameters of the environmental factors that influence formation of the organic horizons made it possible to build *a correlation matrix* and identify the relation patterns in various terrestrial ecosystems.

Eleven gradations of litter stocks were identified: >0.6; 0.6–1.2; 1.3–1.6; 1.7–2.6; 2.7–6.0; 6.1–12; 13–14; 15–21; 22–47; 48–97; 98–225 t/ha. They are referred to as 'areals' in this paper. Breakdown of points into areals was confirmed using the taxonomic method. The following were selected as basic conditions:

First, an areal should be a relatively dense accumulation of points in comparison with other areas of space. Such accumulation of points determines the litter stocks at different points, depending on the influencing factors: the amount of ground litter, the sum of active temperatures, the wetting factors and pH of the environment. All other areas of space must contain either few points, or contain none. In the first case, the points can be classified as extreme, requiring a separate detailed consideration. To quantify the above density concept, it is necessary to obtain both the mean values of the litter stocks and the influencing factors for the selected areals, and the value of the dispersions describing how close the points of the areal are located to the centre (mean value) in the space: the denser and more compact the areal is, the less the dispersions should be.

Second, the areals should be separable from each other – they can be relatively close to each other or separated by wide empty sections.

Third, the set of points should be divided into areals, based on the above rules. At that, one more option was adopted in addition to the requirements for the closeness of points within the areals, density and their remoteness from each other: the divided areals must have the same number of points $(N = 30)$. This rule was implemented by analyzing the graphs of the dependencies of litter stocks on the influencing factors. Then, the most informative and clear graph of areal division was determined. This graph reflected the dependence of litter stocks on the wetting factor, since the features of

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

distribution of 330 points on the plane 'litter stocks – wetting factor' made it possible to highlight the areals most clearly (Figure 2). The graph 'litter stocks – amount of ground litter' was also rather indicative (Figure 3).

The first 120 points arranged along the abscissa axis, which made it possible to distinguish areals by density and separation from each other. It was impossible to identify areals from these 120 points with respect to the ordinate axis. The remaining 210 points arranged along the ordinate axis, which allowed identifying the remaining areals.

In the process of classification, a situation occurred that 60 points with litter reserves of 11.9–21.1 t/ha could not be divided into separate areals in the plane 'amount of ground litter' with respect to the ordinate axis, since the points arranged in a very compact manner (Figure 3).

Due to this, there were considered options for classification in the planes 'litter stocks – sum of active temperatures' and 'litter stocks – environment response'. It appeared that the most expedient was the classification of these areals in the plane 'litter stocks – heat supply (the sum of active temperatures)' and these 60 points were divided into two areals (Figure 4).

Since the data samples in the areals should be a source of information on litter stocks, influencing factors and their interaction, it is important that such samples correctly reflected the properties of the resultant feature – the litter stocks and the factors. For this, the samples should be representative. The method of ensuring the sample representativeness is randomization, i.e. random sampling of data. The randomness of data in the samples was provided by using random numbers.

For each areal there were estimated the mean value of litter stocks and influencing factors and the dispersion (mean deviation squares of random values—litter stocks and influencing factors—from the estimated mean in the areal), which made it possible to assess the compactness of areals.

The estimates of the arithmetic mean are used as the estimates of mean. The analysis of errors of mean (arising from the fact that the estimate of mean was obtained from a finite number of data) brought a conclusion that the obtained estimates of mean with a small error characterize the true mean value.

The boundaries of the intervals were determined, and it became possible to state that the true mean values in 95% of cases fall into this interval, and respectively the sample means (estimates of mean) are in this confidence interval.

The compactness (density) of areals was estimated as a ratio of estimates of dispersion of litter stocks and the influencing factor in which plane the distribution to the areals was conducted.

The compactness analysis showed that three areals were loose. These were the areals with litter stocks 0.02–0.6; 0.6–1.2; 51.4–96.5 t/ha. The points with litter stocks in them are rather scattered in relation to their center (mean). It was suggested to allocate the so-called extreme points in these areals.

To isolate such extreme points and confirm the fact that they differ from the bulk of the values of litter stocks, culling of points in the areals was carried out. The rules justifying culling were developed with reference to the case when the data sampling (litter stocks or influencing factors in the areal) is described by the normal (or close to it) distribution law.

The assumption of the normal distribution of values in the samples characterizing both litter stocks and influencing factors was checked for all areals. The need for such a check was also connected with the fact that all subsequent mathematical operations—correlation analysis, showing how justified the choice of factors is; dispersion analysis, showing how much variation in environmental factors in the areal affects variation in litter stocks; and regression analysis that predicts litter stocks – require the normal distribution of values in the samples.

The hypothesis on the normality of distribution of values in the samples was checked on the basis of the Wilk-Shapiro test, specially adapted for the case when the sample size is $N < 50$. The results of the check showed that, at the risk of making a mistake in 10% of cases, it can be argued that all the samples are distributed normally. This is also confirmed by the variation coefficient (Table 1).

The arithmetic mean values of litter stocks were used in the study to characterize the main geographic areals (Table 2).

The parameters of areals were considered depending on the environmental factors: with

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

litter stocks from 0.3 to 141.4 t/ha, the sum of active temperatures above 10°C from 0.1 to 10,000°C, wetting coefficient from 0.1 to 1.4 , soil solution reaction from 4.0 to 7.0 (Figure 5).

3.2. Types of ecological niches

Next, ecological niches of litter were typified.

3.2.1 Type I – unstable ecological niche

This type has $\boldsymbol{V = 0.1 - 0.2}$; $\boldsymbol{P = 0.9 - 1.0}$ and includes niches for sub-areals in terms of ground litter, heat supply and soil solution reaction. It is characterized by absolutely minimal resistance of the organic soil horizon. Having an extremely narrow ecological niche and a very wide variety of its states in the zone of ecological optimum, the litter quickly loses balance even with a slight change in any factor of the external environment. The organic soil horizon of this type can be used as a primary indicator of changes in the landscape-ecological state of various ecosystems.

Thus, it can be assumed that the sub-areals and gradations of the environmental factor that are within the ecological optimum, reflect a decrease in stability of litter and the ecosystem functioning as a whole.

This ecological niche is typical for the deserts of tropical and equatorial belts with litter stocks of less than 0.3 t/ha and the deserts of arctic belt with litter stocks of 3.3 t/ha.

3.2.2 Type II – ecological niche with poor resistance

This type has $V = 0.3 - 0.5$; $P = 0.6 - 0.8$ and includes niches for sub-areals, where the leading factors are the amount of ground litter, wetting factors and soil solution reaction. Such niches are widespread, but the main states of the organic soil horizon are concentrated in a bottleneck of the ecological optimum, so the resistance is poor. The litter of this type can retain its qualitative certainty in various conditions due to elasticity near the ecological optimum and, to a lesser extent, plasticity in the range of blurred branches of the ecological niche. In general, this litter is characterized by an insignificant number of ecological optimums, which increases the ecosystem functioning stability of the terrestrial version of the landscape sphere.

In terms of *ground litter,* this type of ecological niches includes the following areals among the areals with different litter stocks:

- Sub-areal with litter stocks of 64.3–71.3; 71.3–78.3 t/ha (suffruticous tundra);
- Sub-areal with litter stocks of 0.6–0.9 t/ha (savanna).

A sub-interval, where heat supply is the limiting factor ($S_{t>10°C}$), was not found among the main areals. Probably, such parameters as mean July temperatures and radiation balance of dryness could point to the bottlenecks (limiting resistance) of the ecological niches.

In terms of *wetting conditions*, the following intervals were identified:

- sub-areal with litter stocks of 12.2–15.2 t/ha (forest steppes);
- sub-areal with litter stocks of 11.8–13.2; 13.2–14.6; 16.0–17.4; 17.4–18.8 t/ha (broadleaved woodlands);
- sub-areal with litter stocks of 147.9–180.9; 213.9–246.9 t/ha (swamps of western Siberia);
- sub-areal with litter stocks of 7.4–9.4 t/ha (subtropical forests);
- sub-areal with litter stocks of 4.9–5.9 t/ha (arctic tundra).

In terms of *soil solution acidity*, the following sub-areals were identified:

- sub-areal with litter stocks of 1.9–2.4; 2.4–2.9; 2.9–3.4 t/ha (savannas);
- sub-areal with litter stocks of 0.9–1.2 t/ha (dry steppes);
- sub-areal with litter stocks of 1.9–2.9; 4.9–5.9 t/ha (arctic tundras);
- sub-areal with litter stocks of 0.092–0.128 t/ha (deserts).

Type II ecological niches are the least numerous, because they have a significant number of states with parameters that have little influence on the litter formation. Consequently, such niches can be found only in those ecosystems where only the studied factors affect formation of the organic soil horizon and the influence of other environmental factors is dramatically reduced. The indicators of climatic and biological niches of some areals are in a border state with other niches, which is found in almost all ecosystems.

The organic soil horizons of the broadleaved woodlands with litter stocks of 15 t/ha and the savannas and the sparse forests with litter stocks of 16 t/ha belong to this type of

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ecological niches.

3.2.3 Type III – ecological niche with poor resistance and increased plasticity

This type has $V = 0.5 - 0.7$; $P = 0.4 - 0.6$ and includes niches, where ground litter, wetting conditions and soil solution reaction play a leading role. Such ecological niches of the organic soil horizon differ from those of previous type by a combination of a poorly manifested ecological optimum with average values of the volume of the niche itself. In this case, litter resistance is also dramatically reduced, but when conditions change, it is able to maintain its state due to manifestation of plasticity and, much less, elasticity. This litter has a high level of homeostatic nature and resistance, which is an indicator of terrestrial landscape functioning.

This type of ecological niches includes organic soil horizons of the suffruticous steppes and the forest tundra with litter stocks of 85 t/ha, the coniferous and mixed temperate forests (taiga) with litter stocks of 33 t/ha, and the subtropical forests with litter stocks of 10 t/ha.

3.2.4 Type IV – resistant, homeostatic ecological niche

This type has $V = 0.6 - 0.9$; $P = 0.1 - 0.4$ and includes niches, where the leading role is played by heat supply, wetting conditions and soil solution reaction. With such a niche structure, the organic soil horizon is the most stable, for it has the maximum possible homeostatic nature, which provides it with a high level of resistance.

The litter can vary its structural variables without qualitative transformations in the widest possible range of factor gradations, so it is most tolerant to changes in climatic and biological gradients. Extreme changes in the environmental factors are necessary to bring litter of the fourth type beyond the boundaries of the homeostasis region. In the niche itself, all factor gradations are relatively balanced, which indicates of highly developed mechanisms for adapting the ground organic horizon to changes in this factor. This type of ecological niches includes organic soil horizons of the forest-steppe ecosystems with ground litter stocks of 12.1 t/ha.

CONCLUSIONS

Based on the extensive factual material, the authors developed a comprehensive method of identifying the ecological niches of the organic soil horizons in the aspect of their differentiation, depending on the active environmental factors. A new concept of *ecological niche of the organic soil horizon* is proposed with reference to the assessment of soil-climatic factors (the amount of ground litter, t/ha; the sum of temperatures above 10°C; wetting factor; redox potential, mV) that influence formation and development of the organic soil horizons. The parameters of ecological niches of the organic soil horizons were analysed, and four main types of ecological niches were identified.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was funded by the Russian Foundation for Basic Research (project No. 16-05-00697).

RERERENCES

1. Armand, M. *Ustoichivost geosistem* [Resistance of geosystems]; Armand, M., ed.; Nauka: Moscow, 1986 (in Russian).
2. Armand, A.D.; *Mekhanizmy ustoychivosti geosistem: zapas ustoychivosti i kriticheskiye sostoyaniya* [Mechanisms of geosystem resistance: margin of resistance and critical states]; Nauka: Moscow, 1993 (in Russian).
3. Armand, A.D.; Vedyushkin, M.A.; *Triggernyye geosistemy* [Trigger geosystems]; Institute of Geography of the Academy of Sciences of the USSR: Moscow, 1989 (in Russian).
4. Bazilevich, N.I.; *Dinamika organicheskogo veshchestva i biologicheskiy krugovorot v osnovnykh tipakh rastitelnosti* [Dynamics of organic matter and biological cycling in the main types of vegetation]; Nauka: Moscow, 1965 (in Russian).
5. Bazilevich, N.I.; *Geograficheskiye zakonomernosti struktury i funktsionirovaniya ekosistem* [Geographic patterns of structure and functioning of ecosystems]; Academy of Sciences of the USSR: Moscow, 1986 (in Russian).
6. Bazilevich, N.I.; Drozdov, A.V.; Rodin L.E.; *Zhurnal Obshchey Biologii*, **1968**, 29(3), 264. (in Russian).
7. Bogatyrev, L.G.; *Eurasian Soil Sci.*, **1993**, 5, 34. (in Russian).
8. Bogatyrev, L.G.; *Eurasian Soil Sci.*, **1996**, 4, 1187. (in Russian).
9. Bogatyrev, L.G.; Semenyuk, O.V.;

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Moscow Univ. Soil Sci. Bull., **1996**, 2, 48. (in Russian).
10. Chandler, R.F.; *J. Amer. Soc. Agron*, **1941**, 33, 859.
11. Evans, F.C.; *Science*, **1956**, 123, 1127.
12. Glazovskaya, M.A.; *Izv. Akad. Nauk, Ser. Geog.*, **1992**, 2, 33. (in Russian).
13. Holten, J.I. *Impacts of Climatic Change on Natural Ecosystems (with Emphasis on Boreal and Arctic/Alpine Areas)*; Holten, J.I.; Paulsen, G.; Oechel, W.C., eds.;. NINA and DN: Trondheim, 1993.
14. Karpachevsky, L.O.; Podstilka – osobyy biogorizont lesnogo biogeotsenoza [Litter as a special biohorizon of forest biogeocenosis]. In *Rol podstilki v lesnykh biogeotsenozakh* [Role of litter in forest biogeocenosis]; Nauka: Moscow, 1983, pp. 13-34 (in Russian).
15. Kerzhentsev, A.S.; *Ekologiya i Pochvy*, **1999**, 3, 31. (in Russian).
16. Kolomyts, E.G.; *Regionalnaya model globalnykh izmeneniy prirodnoy sredy* [A Regional Model of Global Environmental Changes]; Nauka: Moscow, 2003 (in Russian).
17. Kubiena, W.L.; Animal activity in soils as a decisive factor in establishment of humus forms. In *Soil Zoology*; Kevan, D.K.McE., ed.; Butterworths Scientific Publications: London, 1955, pp. 73-82.
18. Orians, G.H.; Diversity, stability and maturity in natural ecosystems. In *Unifying Concepts in Ecology*; van Dobben, W.H.; Lowe-McConnell, R.H., eds.; Springer: Dordrecht, 1975, pp. 139-150.
19. Popova, N.V.; *Problemy Okruzhayushchey Sredy i Ratsionalnogo Prirodopolzovaniya*, **2006**, 10, 77. (in Russian).
20. Popova, N.V.; *Prostranstvennaya differentsiatsiya ekosistem po diagnosticheskim parametram napochvennykh organogennykh gorizontov* [Spatial differentiation of ecosystems by diagnostic parameters of ground organic horizons]; Kamerton: Moscow, 2012 (in Russian).
21. Puzachenko, Yu.G.; Kontseptsiya ravnovesnykh otnosheniy v geosferno-biosfernoy sisteme i realizatsii programmy “Globalnyye izmeneniya” [The concept of equilibrium relations in the geosphere–biosphere system and implementation of the Global Change program]. In *Globalnyye problemy sovremennosti i kompleksnoye zemlevedeniye* [Global problems of the present and comprehensive geosciences]; Kotlyakov, V.M., ed.; Geographical Society of the USSR: Leningrad, 1988 (in Russian).
22. Svirezhev, Yu.M.; *Ustoychivost biologicheskikh soobshchestv* [Stability of biological communities]; Nauka: Moscow, 1978 (in Russian).
23. Tishkov, A.A.; Podkhody k issledovaniyam dinamiki bioty kak obyekta geograficheskogo prognozirovaniya [Approaches to studies of biota dynamics as an object of geographical forecasting]. In *Geograficheskoye prognozirovaniye i prirodookhrannye problemy* [Geographical forecasting and nature-oriented problems]; Institute of Geography of the Academy of Sciences of the USSR: Moscow, 1979, pp. 49-60 (in Russian).
24. Titlyanova, A.A.; *Ekologiya*, **1984**, 1, 36. (in Russian).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

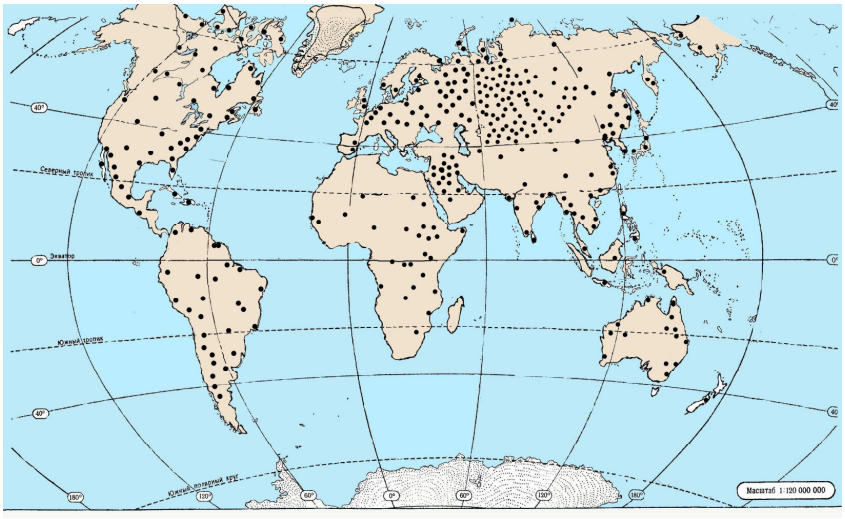


Figure 1. *Stakes with known litter stock (Popova 2012)*

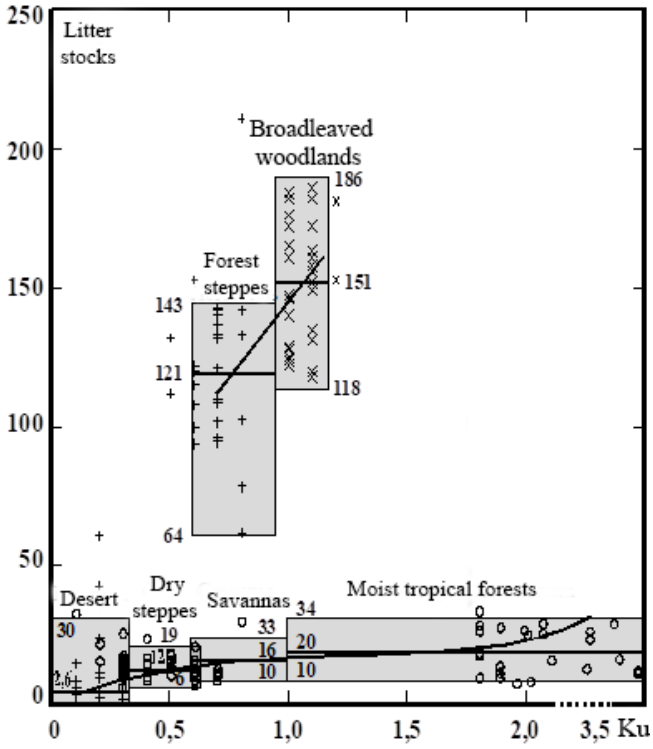


Figure 2. *Dependence of litter stocks (c/ha) on wetting conditions (Ku) (Popova 2012)*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

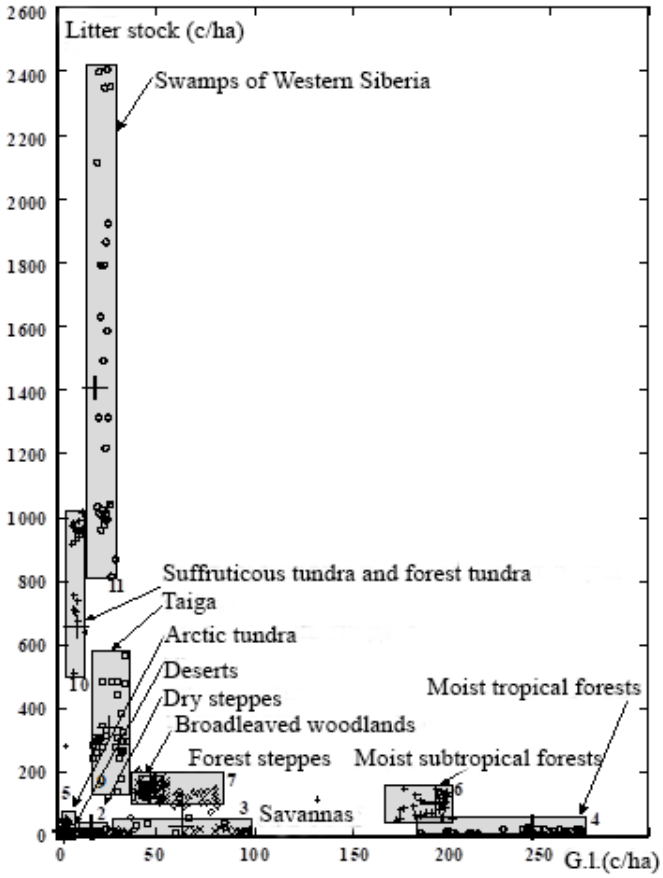
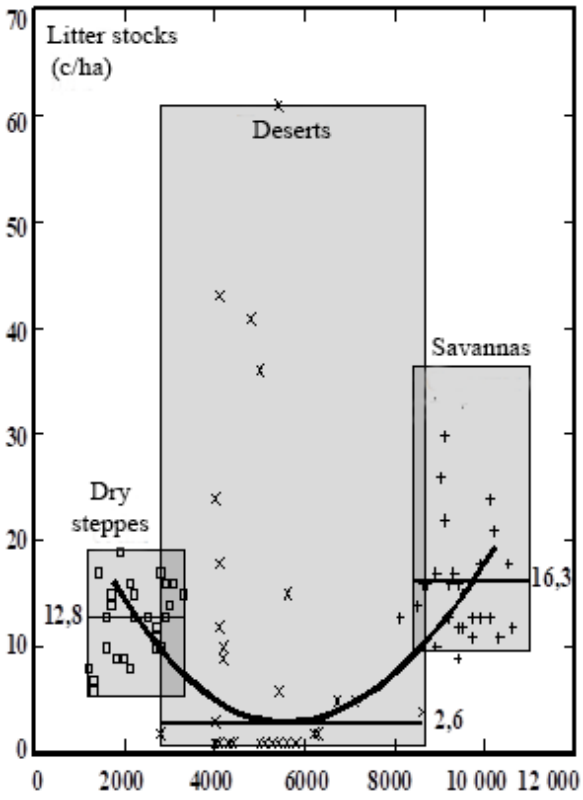


Figure 3. *Division of 330 points with known litter stocks into areals in the plane: litter stocks (c/ha) – amount of ground litter (c/ha) (Popova 2012)*



© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Figure 4. *Division of 330 points with known litter stocks into areals in the plane: litter stocks (c/ha) – heat supply ($S_{t>10°C}$) (Popova 2012)*

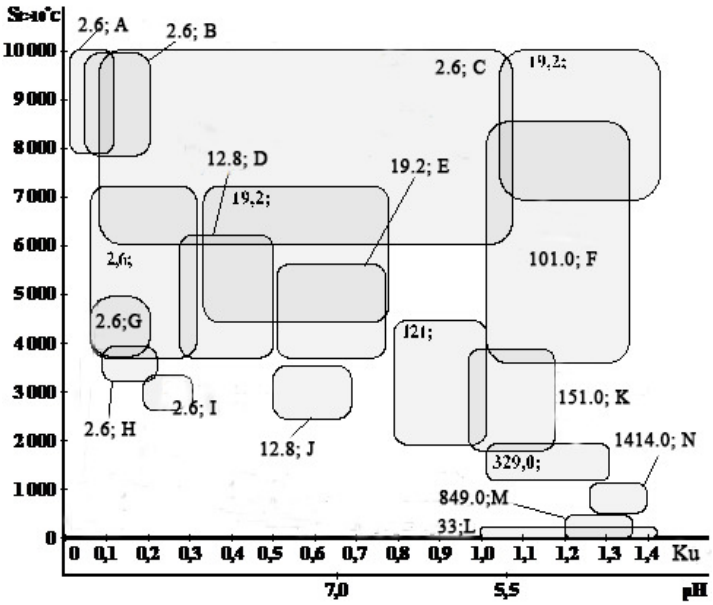


Figure 5. *Characterization of the ecological niches of areals with known litter stocks and parameters: sum of active temperatures above 10°C; wetting coefficient; environment response. The figures indicate litter stocks (Popova 2012) and the letters stand for climates: A – tropical semi-deserts, B – tropical deserts, C – savannas, D – subtropical steppes, E – subtropical hard-leaved forests, F – moist subtropical forests, G – deserts of the subtropical belt, H – semi-deserts of the moderate belt, I – deserts of the moderate belt, J – grassland steppes, K – broadleaved woodlands, L – arctic tundra, M – forest tundra, N – swamps*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 1. *Indicators of density of the main geographical areals*

Areals of litter stocks (c/ha)	Factors	Compactness	Variation coefficient (%)	Estimate of median
2.6	Litter stocks (c/ha)	1.1	68	0.55
	Ground litter (c/ha)		58	2
	Sum of active temperatures (°C)		26	5050
	Wetting coefficient		44	0.2
	Environment response		5	8.2
12.8	Litter stocks (c/ha)	1.3	26	13
	Ground litter (c/ha)		16	17.5
	Sum of active temperatures (°C)		27	2200
	Wetting coefficient		27	0.4
	Environment response		3	7.2
16.3	Litter stocks (c/ha)	0.04	36	15.5
	Ground litter (c/ha)		44	76
	Sum of active temperatures (°C)		6	9450
	Wetting coefficient		42	0.35
	Environment response		3	5.8
19.2	Litter stocks (c/ha)	0.08	38	20
	Ground litter (c/ha)		11	240.5
	Sum of active temperatures (°C)		25	9800
	Wetting coefficient		44	2.65
	Environment response		6	4.9
33	Litter stocks (c/ha)	147.5	46	35.5
	Ground litter (c/ha)		38	3
	Sum of active temperatures (°C)		26	345
	Wetting coefficient		9	2
	Environment response		3	5.7
101.3	Litter stocks (c/ha)	4.43	31	100
	Ground litter (c/ha)		8	192.5
	Sum of active temperatures (°C)		20	6350
	Wetting coefficient		10	1.6
	Environment response		4	4.2
121	Litter stocks (c/ha)	4.0	22	120.5
	Ground litter (c/ha)		21	64.5
	Sum of active temperatures (°C)		26	2550
	Wetting coefficient		12	0.7
	Environment response		5	6.4
151	Litter stocks (c/ha)	22	25	152.5
	Ground litter (c/ha)		10	47
	Sum of active temperatures (°C)		27	2600
	Wetting coefficient		6	1.05
	Environment response		15	6.05
329	Litter stocks (c/ha)	306	29	305
	Ground litter (c/ha)		20	30
	Sum of active temperatures (°C)		22	1600
	Wetting coefficient		15	1.3
	Environment response		16	4.4
849	Litter stocks (c/ha)	4337	17	952
	Ground litter (c/ha)		24	9
	Sum of active temperatures (°C)		39	600
	Wetting coefficient		15	2.2
	Environment response		7	5
1414	Litter stocks (c/ha)	54435	36	1134
	Ground litter (c/ha)		10	24
	Sum of active temperatures (°C)		16	961
	Wetting coefficient		10	1.75
	Environment response		14	4.8

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 2. *Characteristics of litter stocks in areals*

Limits of fluctuations in litter stocks in the areal (t/ha)	**Estimate of arithmetical mean (t/ha)**	**Estimate of median (t/ha)**
0.02–0.6	0.3	0.06
0.6–1.2	1.3	1.3
1.3–1.6	1.7	1.6
1.7–2.6	2.0	20
2.7–6.0	3.3	3.6
6.0–12.3	10	10
12–14	12	12
14–21	15	15.3
25–47	33	31
52–97	85	95
97–225	141	113

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA DAS EMISSÕES DE MOTORES DE GASOLINA COM CATALISADOR DE *La_2O_3/Zn/Na*

STATISTICAL EVALUATION OF GASOLINE ENGINE EMISSIONS WITH *La_2O_3/Zn/Na* CATALYST

EVALUACIÓN ESTADÍSTICA DE LAS EMISIONES DEL MOTOR GASOLINERO CON CATALIZADOR *La_2O_3/Zn/Na*

CHIRINOS COLLANTES, Hugo David[1*]; LAZO CAMPOSANO, Roberto[2]; PEREZ ALARCON, Renzo[1]

[1] Universidad Nacional de Ingeniería, Facultad de Ingeniería Ambiental, Av Tupac Amaru, 210 Rímac - Perú

[2] Universidad Nacional del Callao, Facultad de Ingeniería Química, Prolongación Santa Rosa, s/n, Bellavista – Callao – Perú

** Autor correspondente*
e-mail: hchirinios@uni.edu.pe

Received 12 June 2018; received in revised form 02 November 2018; accepted 14 November 2018

RESUMO

Os resultados adquiridos das emissões de motores a gasolina (Toyota ANZ1) são avaliados estatisticamente com o catalisador desenvolvido (La_2O_3/Zn/Na). Os testes foram realizados na bancada de testes de combustão desenvolvida. Os resultados mostram que a percentagem de emissões de CO aumenta à medida que a velocidade do motor aumenta, atingindo valores superiores a 4%, sendo o catalisador original que com o catalisador desenvolvido, que contém 5% em peso de emissões de CO, mas quando o motor não tem o sensor de oxigênio. Quando a concentração de Lantano é de 7,5%, a eficiência atinge 7% de remoção de CO e 32% de remoção de HC. O teste estatístico T para amostras independentes indica que o catalisador original e que desenvolvido apresentou uma diferença estatisticamente significativa na eficiência catalítica. Pelo contrário, quando o sensor de oxigênio é conectado, o catalisador desenvolvido também é eficiente. Por outro lado, as emissões de HC diminuem à medida que a velocidade do motor aumenta alcançando valores próximos de 200 ppm, o que corresponde à norma EURO III, sendo que com o catalisador desenvolvido, que contém 7,5% em peso de GNL, as emissões de HC 147ppm demostrando bom desempenho.

Palavras-chave: *Catalisador automotivo, lantânio, Hidrocarbonetos, La2O3, eficiência catalítica.*

ABSTRACT

The results of gasoline engine emissions purchased by the Toyota ANZ1 are statistically evaluated with the catalyst developed (La_2O_3/Zn/Na). The tests were carried out in the combustion test bench developed. The results show that the percentage of CO emissions increases as the engine speed increases, reaching values higher than 4%, with the original catalyst being that with the catalyst developed, which contains 5% by weight of Lanthane emissions of CO are close to 2%, but when the engine doesn´t have the oxygen sensor. When the concentration of Lanthane is 7,5%, the efficiency reaches 7% of CO removal and 32% of HC removal. The statistical test T for independent samples indicates that the original catalyst and that developed presently a statistically significant difference in catalytic efficiency. On the contrary, when the oxygen sensor is connected, the catalyst developed is also efficient. On the other hand the emissions of HC decrease as the engine speed increases reaching values close to 200ppm which corresponds to the EURO III standard, being that with the catalyst developed, which contains 7,5% by weight of LNG, the HC emissions It is 147ppm showing good performance.

Keywords: *Automotive catalyst, lanthanum, Hydrocarbons, La_2O_3, catalytic efficiency.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

RESUMEN

Se evaluaron estadísticamente los resultados de las emisiones del motor gasolinero (Toyota ANZ1) con el catalizador de La_2O_3/Zn/Na. Los ensayos se realizaron en el banco de pruebas de combustión. Los resultados muestran que el porcentaje de emisiones de CO aumentan conforme se incrementa la velocidad del motor llegando a valores al 4%, con el catalizador original del motor siendo que con el catalizador de La_2O_3/Zn/Na, que contiene 5% en peso de Lantano las emisiones de CO son próximos al 2%, pero cuando el motor no tiene el sensor de oxígeno. Cuando la concentración de Lantano es de 7,5% la eficiencia llega al 7% de remoción de CO y 32% de remoción de HC. La prueba estadística T para muestras independientes indica que con el catalizador original y con el de La_2O_3/Zn/Na, hay una diferencia estadísticamente significativa con respecto a la eficiencia catalítica. Por el contrario cuando el sensor de oxigeno está conectado el catalizador con La_2O_3/Zn/Na, se muestra poco eficiente. Por otro lado las emisiones de HC disminuyen llegando a valores próximos a 200ppm que corresponde a la norma EURO III siendo que con el catalizador de La_2O_3/Zn/Na, que contiene 7,5% en peso de Lantano las emisiones de HC es de 147ppm demostrando buen desempeño.

Palavras-chave: catalizadores automobilísticos, *lantano, Hidrocarburos, La_2O_3, eficiencia catalítica,*

INTRODUCCIÓN

Los motores de combustión interna constituyen una de las principales causas de contaminación ambiental. En el caso particular de los motores diésel los principales contaminantes son las partículas de hollín o material particulado y los óxidos de nitrógeno. En el caso de los motores de combustión interna a gasolina en cambio, su funcionamiento se basa en el principio formulado por Beauc de Rochas en 1862, y puesto en práctica por Otto a partir de 1876, el cual básicamente explica que el calor se aporta a volumen constante (Erazo, *et al*, 2004; Gobierno de Chile, 2002; Mafla, 2007). Los motores ciclo Otto trabajan con una mezcla proporcional aire y gasolina; la combustión se realiza por el salto de chispa eléctrica generada en los electrodos de la bujía. El motor de combustión interna ha mantenido hasta la fecha sus características fundamentales si bien con el paso del tiempo ha sufrido modificaciones y refinamientos convirtiéndose en una máquina altamente sofisticada y que hasta los días de hoy sigue en vías de desarrollo, los fabricantes han desarrollado sistemas de control electrónico que han sido diseñados para aprovechar en mayor porcentaje el combustible obteniendo una mayor potencia y consecuentemente la reducción de emisiones contaminantes. A pesar de todo estos avances su eficiencia térmica es bastante baja donde apenas un 30% de la energía térmica del combustible pueden convertirse en energía mecánica, el resto se pierde en forma de calor transferidos a través de la cámara, o en los gases de escape que son evacuados del interior de la cámara de combustión hacia el exterior a través del sistema de escape por lo que se hace indispensable que exista un buen sistema de enfriamiento que permita mantener la temperatura a niveles de funcionamiento que garantice la durabilidad del motor. Dentro de los elementos importantes del motor de combustión interna se tiene: cámara de combustión, que es el espacio remanente entre la parte superior del pistón cuando este se encuentra en el punto muerto superior y la culata o tapa de cilindros, es la parte fundamente del motor, puesto que en su interior se realizan los procesos de combustión. El cilindro, que es un compartimento cerrado herméticamente en el cual se desliza el pistón comprimiendo la mezcla gasolina y aire. El pistón, es el que se desplaza en el interior del cilindro en línea recta, continua y reciprocante desde el punto muerto inferior y superior encargado de transmitir la potencia a la biela. La biela, que es la encargada de transmitir la energía mecánica al cigüeñal convierte el movimiento rectilíneo del cilindro en circular y así girar en movimientos continuos. El cigüeñal, que está hecho de acero posee una gran resistencia mecánica a la torsión. El árbol de levas, se encuentra localizado en la cabeza o parte superior del motor, también denominada culata de cilindros, encargado de regular la apertura de las válvulas de admisión y de escape (Obert, 1996; Reinoso, 2002).

La relación aire combustible es la relación estequiométrica para que la combustión sea completa y por lo tanto, teóricamente para 1gr de gasolina son necesarios 14,7 gr de aire (Alegría, 2005; Blanco, 2008; Gamas, 2002). Los productos de la combustión completa son CO_2, H_2O y N_2.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Estos gases son considerados no contaminantes pero debido al incremento desmesurado del CO_2 es considerado como gas efecto invernadero. En la mayoría de los casos y por diversos factores que influyen en la quema del combustible se da lugar a una combustión incompleta o real en la cual se emiten los mayores contaminantes atmosféricos. En este proceso se obtienen gases contaminantes como: Monóxido de carbono (CO), hidrocarburos sin quemar (HC), óxidos de nitrógeno (NOx), material particulado (MP), sulfuro de hidrógeno (H_2S), (SO_2), entre otros. Además de CO_2 y vapor de agua.

Factor Lambda, se define como la relación entre la cantidad de aire necesario para producir una combustión completa, en relación estequiometrica y la cantidad de aire real que aspira el motor (Muñoz, 2006; Ordonez, 2003; Gonzales, 2002). Durante el funcionamiento del motor el factor lambda debe variar dentro de unos límites máximo y mínimo establecidos ya que el motor no puede estar alimentado constantemente con una mezcla en relación estequiometrica teórica, esto es lambda igual a 1, puesto que en estas condiciones el motor no proporciona ni su potencia máxima ni el máximo rendimiento térmico. El factor lambda se conoce mediante una sonda de oxigeno instalado en la salida del escape del motor.

Sistema de control de emisiones, es el conjunto de componentes que pueden regular su propia conducta o la de otro sistema con el fin de lograr un funcionamiento predeterminado, de modo que reduzcan las probabilidades de fallos y se obtengan los resultados buscados. Los sistemas de control de emisiones vehiculares son todas aquellas tecnologías que han sido desarrolladas para reducir los elementos contaminantes producidos por lo automóviles en el proceso de combustión, dichos sistemas son instalados en los motores en una determinada ubicación dependiendo de la función que vayan a cumplir, con esto se pretende reducir de forma significativa los elevados niveles de contaminantes contenidos en los gases de escape y que atiendan las normas internacionales según la Tabla 1.

Tabla 1. *Normas Europeas sobre emisiones vehiculares ligeros < 1305 kg*

Tipo	Fecha	CO, %	HX, ppm
Gasolina			
EURO I	Octubre 1994	2.72	-----
EURO II	Enero de 1998	2.2	------
EURO III	Enero de 2000	2.30	200
EURO IV	Enero de 2005	1.0	100
EURO V	Septiembre de 2010	1.0	75

Fuente: Portilla A., 2005.

El presente trabajo pretende evaluar el desempeño de un nuevo catalizador formado por monolitos de cordierita de magnesio (2MgO, $2Al_2O_3$, $5SiO_2$) con una estructura parecida a un panal de abejas (Hubert, *et. al.* 1997). En la superficie de la cordierita se aplica una película del nanocompuesto que contiene el catalizador de La_2O_3/Zn/Na. En anteriores trabajos (Hubert, *et. al.* 1997, 1998, 2001) se observó que estos nanocompuestos poseen una buena actividad selectividad y capacidad de auto-regenerarse "*in situ*". Son químicamente estables y su actividad catalítica se inicia a partir de 250ºC y en estas condiciones se logra disminuir entre 95-99% la concentración de las emisiones.

PARTE EXPERIMENTAL

El desarrollo de una tecnología de pruebas para evaluar los nuevos convertidores catalíticos permitirá comprobar que éstos se encuentren funcionando adecuadamente. Esto puede lograrse al realizar la comparación entre las concentraciones de los gases que ingresan al convertidor catalítico y los valores que salen, obteniéndose un porcentaje de reducción que en buenas condiciones de operación reduce aproximadamente un 90% las emisiones contaminantes. La vida útil de un convertidor catalítico es de 80.000 km, siendo este un valor referencial. Existen dos maneras de realizar pruebas de emisiones contaminantes, como son: pruebas en banco y pruebas en ruta.

Las pruebas en banco, consta de dos maneras, como son: con dinamómetro de banco y con dinamómetro de rodillos. El dinamómetro en banco permite evaluar la calidad de ensamble del motor. Estas pruebas permiten medir las características del motor en un dinamómetro de banco con carga y sin carga. Las pruebas para

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

este trabajo se realizaron en el banco de pruebas mostrado en la Figura 1 sin accionar carga en el dinamómetro.

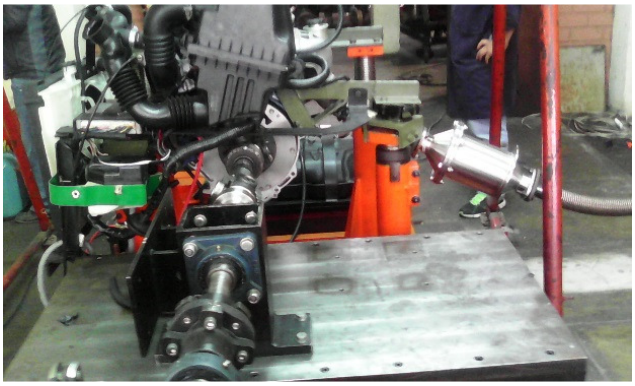


Figura 1. *Banco de pruebas con motor gasolinero.*

Las Figuras 2 y 3 muestran el acondicionamiento y el montaje del monolito, previamente impregnado con lantano (Neira, 2016), dentro de la capsula metálica y este en el sistema de escape del motor.



Figura 2. *Acondicionamiento y montaje del monolito, impregnado con lantano, dentro de la capsula metálica de acero.*



Figura 3. *Instalación de la capsula metálica, con el monolito, en el tubo de escape del motor.*

La metodología de pruebas que se sigue fue utilizada para evaluar el desempeño del convertidor catalítico y tiene los siguientes pasos: preparación de equipos, ejecución de pruebas y procesamiento de datos. El primer paso consta de los siguientes equipos: banco de pruebas, analizador de gases, convertidor catalítico y sistema de adaptación de los convertidores catalíticos.

El banco de pruebas está compuesto por los siguientes equipos: El Banco propiamente dicho que presentan los siguientes elementos: motor de combustión interna (gasolinero), controles de mando, palanca de cambios, interruptores de encendido y apagado, tanque de combustible, múltiple de escape, acelerador manual, botón de emergencia, control de combustible; El Dinamómetro que presentan los siguientes elementos: freno y panel de control.

2.1. Ejecución de pruebas

Se debe tener en cuenta que si las emisiones son muy altas, se deben realizar las pruebas en un ambiente abierto o bastante ventilado. En el banco de pruebas se debe revisar posibles fugas del sistema (salida de escape, motor, uniones), encender el motor del banco de pruebas. Esperar un tiempo prudencial para que alcance el equilibrio térmico. Verificar posibles fugas en el sistema de escape y demás juntas y uniones una vez que entre en funcionamiento el motor. Verificar una temperatura adecuada de funcionamiento del motor. Purgar la salida de escape al menos 3 veces.

2.2. El analizador de gases

Se debe: revisar la sonda del analizador de gases eliminando posibles depósitos y acumulación de agua. Preparar el analizador de gases. Encender el analizador de gases y esperar un tiempo prudencial para estabilizar y alcanzar el equilibrio térmico. Someter el equipo a prueba de fugas. Conectar el censor de rpm a la primera bujía del motor. Conectar la sonda de temperatura en el tanque de aceite para determinar la temperatura de trabajo del motor. Colocar el sensor de temperatura en el orificio de la sonda de nivel de aceite, esto permite controlar la temperatura del motor durante la operación. La toma de datos se realizará cuando el motor alcance la temperatura de funcionamiento. Se

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

introduce la sonda en el tubo de escape.

Una vez conectado el analizador de gases al banco de pruebas se coloca el analizador en la opción “prueba de gases” y posteriormente se selecciona “diagnóstico de vehículo”. Se espera un tiempo de respuesta del equipo. Se estabiliza al motor en las revoluciones deseadas. Y con la fuerza aplicada del dinamómetro se realizan las mediciones requeridas. El procedimiento se repite para cada uno de los gases en el instante antes (sin catalizador) y después (con catalizador).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

Los resultados en el banco de pruebas (Tablas 2 – 9) se observa una pequeña tendencia en los valores de reducción tanto de CO como de HC por lo que se hace promisorio el estudio y enfatizar en la optimización del método de impregnación y calcinación del catalizador.

La Figura 4 muestra el resultado de las emisiones de CO y que este aumenta conforme se incrementa la velocidad del motor llegando a valores superiores al 5%, con el catalizador original siendo que con el catalizador de *La_2O_3/Zn/Na*, que contiene 5% y 7,5% en peso de Lantano las emisiones de CO son próximos al 2% y 6% respectivamente, pero cuando el motor no tiene el sensor de oxígeno. Mientras tanto, las emisiones resultan ser menores a 1% en todos los catalizadores pero con el sensor de oxígeno conectado. La prueba estadística *T student* para muestras independientes indica que el catalizador original y el de *La_2O_3/Zn/Na* presentan similar actividad catalítica cuando el sensor de oxigeno esta desconectado. Por el contrario cuando el sensor de oxigeno está conectado el catalizador de *La_2O_3/Zn/Na* se muestra poco eficiente.

La Figura 5 muestra el resultado de las emisiones de HC y que este disminuye conforme se incrementa la velocidad del motor llegando a valores próximos a 200ppm que corresponde a la norma EURO III (Portilla, 2005) siendo que con el catalizador de *La_2O_3/Zn/Na*, que contiene 5% y 7,5% en peso de Lantano las emisiones de HC llegó a 203ppm y 147ppm respectivamente. La prueba estadística *T Student* para muestras independientes indica que el catalizador original y el *La_2O_3/Zn/Na* presentan una actividad catalítica similar cuando el sensor de oxigeno esta desconectado. Por el contrario cuando el sensor de oxigeno está conectado el catalizador de *La_2O_3/Zn/Na* se muestra también eficiente.

Prueba Estadística de la validez de los datos obtenidos:

Para verificar si los datos obtenidos son estadísticamente significativos se optó por realizar la prueba estadística *T-student* para eso se realiza la prueba de homocedasticidad de las muestras o sea si las muestras tienen varianzas homogéneas o heterogéneas (Box G.P., 1978; Cornell, 1995). Por lo tanto, se aplicará la prueba F para cada catalizador y luego se compararán con los datos obtenidos sin el catalizador.

Tabla 10: *Prueba F de los resultados de las emisiones de CO para los dos catalizadores*

	Original	***LZNa***
Media	3.95714	1.9385713
Varianza	1.94671	1.8350149
Observaciones	7	7
Grados de	6	6
F		1.060634
P(F<=f) una cola		0.472519
Valor crítico para F (una		4.283866

De la Tabla 10 se observa que el valor P (0.4724) de la prueba F es mayor al nivel de significancia (0,05) por lo tanto se acepta la hipótesis nula y se concluye que las varianzas de los resultados de las emisiones de los dos catalizadores son iguales. Esto indica que los resultados de ambos catalizadores presentan varianzas homogéneas. Por lo tanto se aplica la prueba estadística *T-student* para varianzas homogéneas. Los resultados se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11: *Prueba estadística T-student de las emisiones de CO para los dos catalizadores.*

	Original	***LZNa***
Media	3.95714286	1.9385743
Varianza	1.9462574	1.8351429
Observaciones	7	7
Varianza agrupada		1.8906571
Grados de libertad		12
Estadístico t		2.7464693
P(T<=t) una cola		0.0088895
Valor crítico de t (una cola)		1.788756
P(T<=t) dos colas		0.0177789
Valor crítico de t (dos colas)		2.178828

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Como el valor P (0,0177) del estadístico T es menor que el nivel de significancia (0,05) se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna por lo tanto, hay diferencia estadísticamente significativa de la eficiencia catalítica entre el catalizador original del motor y el catalizador de $La_2O_3/Zn/Na$ con 5% y 7,5%..

CONCLUSIONES

Los resultados muestran que el porcentaje de emisiones de CO aumentan conforme se incrementa la velocidad del motor llegando a valores superiores al 5%, con el catalizador original siendo que con el catalizador de $La_2O_3/Zn/Na$, que contiene 5% en peso de Lantano las emisiones de CO son próximos al 2%, pero cuando el motor no tiene el sensor de oxígeno. Cuando la concentración de Lantano es de 7,5% la eficiencia llega 7% de remoción de CO y 32% de remoción de HC. La prueba estadística *T student* para muestras independientes indica que el catalizador original y con el de $La_2O_3/Zn/Na$ presentan una diferencia estadísticamente significativa con respecto a la eficiencia catalítica. Por el contrario cuando el sensor de oxigeno está conectado el catalizador de $La_2O_3/Zn/Na$ se muestra poco eficiente. Por otro lado las emisiones de HC disminuyen llegando a valores próximos a 200ppm que corresponde a la norma EURO III siendo que con el catalizador de $La_2O_3/Zn/Na$, que contiene 7,5% en peso de Lantano las emisiones de HC llegó a 147ppm lo que demuestra un buen desempeño. Se está trabajando en mejorar la adherencia catalizador-monolito.

AGRADECIMIENTOS

A FINCyT por el financiamiento otorgado para de desarrollo de la investigación. Y también por apoyar la investigación en el Perú. Al Ingeniero Jorge Ponce Galiano por el diseño, montaje y puesta en marcha del banco de pruebas del motor Instalado en el Instituto de Motores de la Universidad Nacional de Ingeniería.

REFERENCIAS

1. Erazo, A.; Moreno, V. “Técnicas para mejorar el funcionamiento de los motores a gasolina en la altura”. Proyecto de titulación previo a la obtención del título de Ingeniero Mecánico. EPN, Quito, Ecuador, **2004**.
2. Gobierno de Chile, “Informe técnico programa experimental convertidor de oxidación”, Centro de control y certificación vehicular, Chile, **2002**.
3. Alegría, J., “Emisiones de gases”, www.mailxmail.xom/emisiones.pdf, **2005**.
4. Blanco, J. “Catálisis para la protección ambiental”, Instituto de Catálisis y Petroquímica, España, **2008**.
5. Gamas, L. Díaz & I. Schifter, “Métodos de evaluación de convertidores catalíticos” 2002, http://www.subtrans.cl/subtrans/doc/3cv-InformeTecnico14.doc
6. Gonzales, J. et. al. “Catálisis automóvil y medio ambiente”, facultad de ciencias, Universidad del Pais Vasco, Bilbao, **2002**.
7. Mafla, M.; Ortiz, M. “Metodología para certificar la calibración de analizadores de gases y opacímetros”. Proyecto de titulación previo obtención del titulo de Ingeniero Mecánico, EPN, Quito, Ecuador. **2007**.
8. Portilla A**.**, “Los materiales en el control de emisiones contaminantes”. Escuela Politécnica Nacional – Facultad de Ingeniería Mecánica, Quito – Ecuador. **2005**.
9. Muñoz, Edgar; Molina Miguel. “Desarrollo de un método para determinar los factores de emisiones de vehículos livianos a gasolina. Quito. Proyecto de titulación a la obtención del título de Ingeniería Química. EPN, Quito. Ecuador, 2000.
10. Obert, E, “ Motores de Combustión Interna “, Editorial Continental, México. 1996.
11. Reinoso, A; Centro de Control y Certificación Vehicular,, “Informe Técnico Programa Experimental Convertidor Catalítico”. **2002**. http://www.icp.csic.es/cyted/Monografías/Monografías1998/A4-115.pdf.
12. Neira Guido, Ariatna, Y., A., Gómez Cuaspud, Jairo A., & Vera López, Enrique, “Síntesis y caracterización de una perovskovita simple del tipo La 0.8 $Sr0.2CrO_3$. Revista de Ciencia, 20(1), 70 – 94. 2016.
13. Ordoñez, Freddy. “Manual de procedimientos de calibración de equipos medidores de presión”. Proyecto de titulación previo a la obtención del título de Ingeniero Mecánico. EPN, Quito. Ecuador, 2003.
14**.** Box, G.E.P.; Hunter, W.G.; HUNTER, J.S. Statics for Experimental: An Introduction to Design, Data Analysis, and Model Building. N.Y. **1978**.
15**.** Cornell, J.A How to apply response surface methodology in The ASQC Basic

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Reference in Quality Control: statical techniques. Shapiro, S.S., & Mykyhta E.F. (eds.) American Society for Quality Control, Milwaukee, WI, EUA. 1990., IPEN/CNEN-SP). **1995**.
16. Hubert Augusto A. Alvarez, Geraldo Vicentini, Paulo Celso Isolini, Spectroscopy study of complex of Trifluorometanossulfonates of Lanthanides with ε-Caprolactam doping with Európium, in XXXVII Congresso Brasileiro de Química. Natal 28 set. a 03 oct. 1997.
17. Hubert Augusto A. Alvarez, Jivaldo do Rosario Matos e Geraldo Vicentini, Termogravimeytric study of Complexes of Trifluorometanossulfonates of Lanthanides with ε-Caprolactama. In XXXVII Congresso Brasileiro de Química. Natal, 28 set. a 03 oct. 1997.
18. Hubert Augusto A. Alvarez, Maria Irene Yoshida, Geraldo Vicentini, Kinetic of degradation of Trifluorometanossulfonates of Lanthanídes(III). In I Congresso Brasileiro de Analise Térmica e Calorimetria Associação Brasileira de Analise Térmica e calorimetria ABRATEC Poço de Caldas- MG, 29 março a 02 abril, 1998.
19. Hubert Augusto A. Alvarez, Graciele Duarte, Maria Irene Yoshida, Geraldo Vicentini, Study of Kinetic of Decomposition isothermal of $Er(SO_3CF_3)_3.9H_2O$, in 24ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química-SBQ Poço de Caldas-MG, 28 a 31 maio, 2001.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

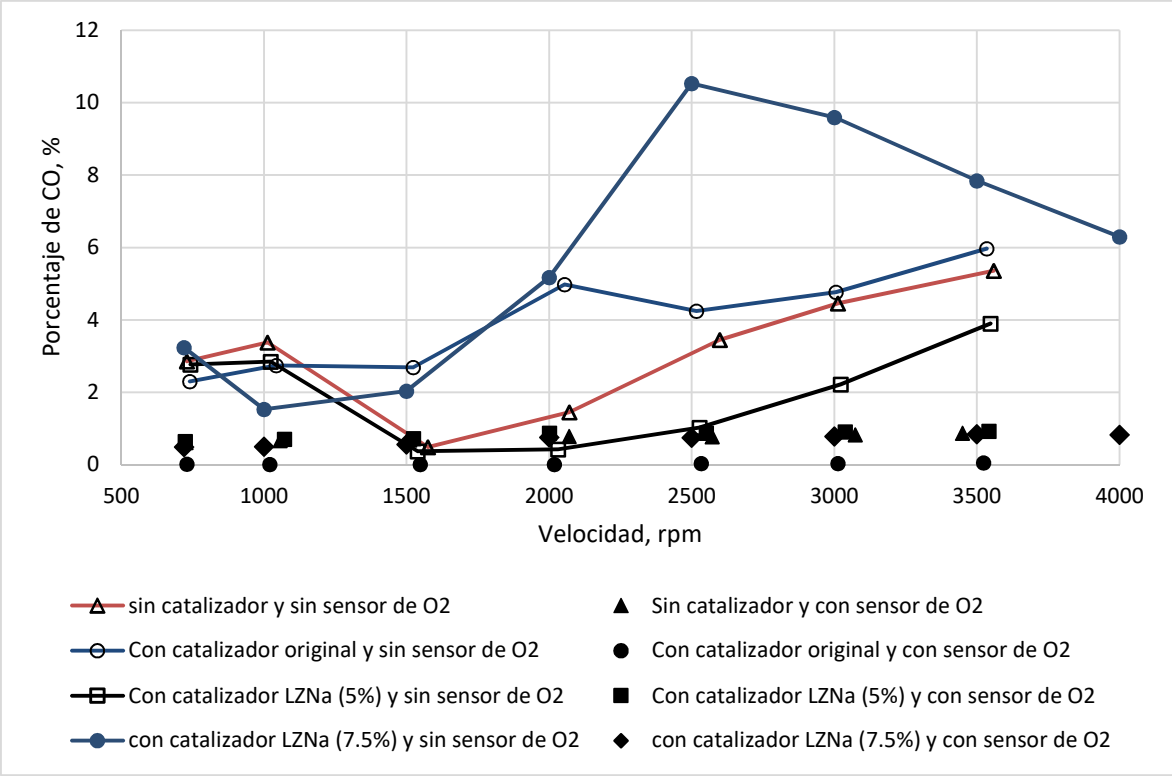


***Figura 4**: Resultado de las emisiones de CO del motor ANZ1 gasolinero sin catalizador y con los catalizadores original, catalizador de La_2O_3/Zn/Na al 5% y 7,5% de Lantano.*

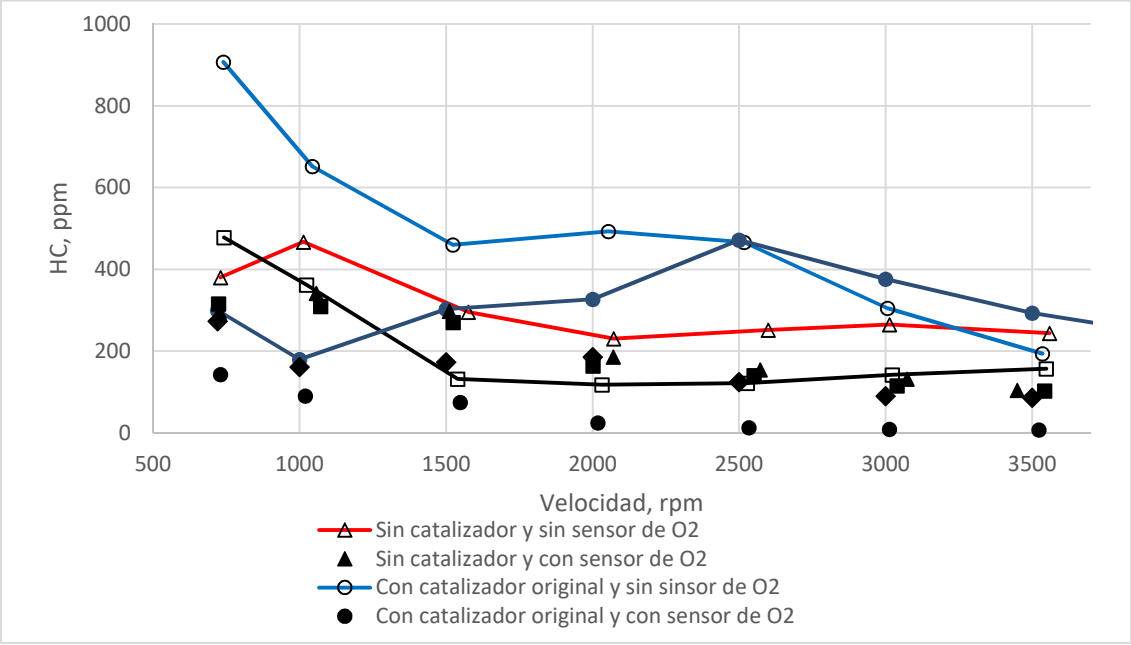


***Figura 5**: Resultado de las emisiones de HC del motor ANZ1 gasolinero sin catalizador y con los catalizadores original, catalizador de La_2O_3/Zn/Na al 5% y 7,5% de Lantano.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

***Tabla 2**: Resultados de las emisiones del motor sin catalizador y con el sensor de oxígeno desconectado.*

RPM	T1, °C	T2,°C	λ	CO, %V	HC, ppm	O_2, %V
730	90	85	1.028	2.86	380	2.09
1013	90	82	1.004	3.38	467	2.03
157	98	90	1.124	0.49	296	2.23
2071	98	90	1.046	1.45	231	1.57
2599	110	100	0.967	3.45	252	1.34
3013	120	110	0.913	4.46	265	0.91
3559	130	120	0.874	5.36	244	0.61

***Tabla 3**: Resultados de las emisiones del motor sin catalizador y con el sensor de oxígeno conectado.*

RPM	T1, °C	T2, °C	λ	CO, %V	HC, ppm	O_2, %V
726	148	141	1.136	0.62	296	2.09
1057	141	138	1.143	0.67	342	2.03
1511	142	140	1.105	0.69	298	2.23
2070	150	143	1.091	0.79	186	1.57
2572	152	150	1.086	0.78	155	1.34
3073	160	158	1.060	0.83	132	0.91
3449	173	168	1.041	0.88	105	0.61

***Tabla 4**: Resultados de las emisiones del motor con catalizador original y con el sensor de oxígeno desconectado.*

RPM	T1,°C	T2, °C	λ	CO, %V	HC, ppm	O2, %V
740	120	130	0.965	2.30	907	1.07
1043	120	140	0.953	2.74	652	0.92
1523	120	140	0.949	2.69	460	0.74
2054	130	140	0.888	4.98	493	0.78
2517	140	150	0.913	4.25	466	0.82
3006	150	151	0.892	4.77	305	0.56
3535	170	170	0.854	5.97	194	0.29

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

***Tabla 5**: Resultados de las emisiones del motor con catalizador original y con el sensor de oxígeno conectado.*

RPM	T1, °C	T2, °C	λ	CO %V	HC, ppm	O2, %V
730	150	180	1.075	0.02	143	1.23
1020	150	182	1.063	0.01	91	1.02
1548	155	185	1.043	0.01	75	0.72
2018	180	185	1.047	0.01	25	0.74
2533	180	190	1.057	0.04	13	0.90
3013	190	200	1.036	0.04	9	0.58
3523	195	205	1.019	0.05	8	0.32

***Tabla 6**: Resultados de las emisiones del motor con catalizador La/Zn/Na al 5% de Lantano y con el sensor de oxígeno desconectado.*

RPM	T1, °C	T2, °C	λ	CO, %V	HC, ppm	O2, %V
742	150	95	1.035	2.77	478	2.22
1024	150	95	0.998	2.85	362	1.61
1539	155	100	1.205	0.37	132	3.10
2032	155	105	1.148	0.43	118	2.42
2528	155	105	1.052	1.03	122	1.39
3023	160	105	0.972	2.22	142	0.74
3548	170	115	0.907	3.90	157	0.46

Tabla 07*: Resultados de las emisiones del motor con catalizador La/Zn/Na al 5% de Lantano y con el sensor de oxígeno conectado.*

RPM	T1, °C	T2, °C	λ	CO %V	HC, ppm	O2, %V
724	190	150	1.147	0.65	316	2.62
1072	190	150	1.098	0.71	310	2.00
1524	190	150	1.087	0.73	271	1.83
2001	190	145	1.076	0.88	164	1.69
2551	190	145	1.061	0.88	141	1.46
3039	195	150	1.037	0.91	116	1.10
3543	205	155	1.031	0.93	103	1.01

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

***Tabla 8**: Resultados de las emisiones del motor con catalizador La/Zn/Na al 7,5% de Lantano y con el sensor de oxígeno desconectado.*

RPM	T1, °C	T2, °C	λ	CO, %V	HC, ppm	O2, %V
720	150	130	0.94	3.242	300	1.24
1000	160	130	1.576	1.532	180	1.72
1500	175	142	0.97	2.031	303	0.97
2000	180	142	0.876	5.178	327	0.85
2500	180	145	0.731	10.53	472	0.86
3000	185	148	0.741	9.599	376	0.52
3500	190	150	0.79	7.841	293	0.31
4000	200	159	0.823	6.301	236	0.24

Tabla 9*: Resultados de las emisiones del motor con catalizador La/Zn/Na al 7,5% de Lantano y con el sensor de oxígeno conectado.*

RPM	T1, °C	T2, °C	λ	CO %V	HC, ppm	O2, %V
720	150	130	1.08	0.495	274	2.25
1000	150	131	1.04	0.509	162	1.50
1500	151	131	1.06	0.565	174	1.82
2000	151	131	1.04	0.763	186	1.54
2500	160	130	1.03	0.756	125	1.31
3000	180	131	1.01	0.785	91	0.91
3500	190	138	1.01	0.853	87	0.93

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ALQUIMIA NO MUNDO CONTEMPORÂNEO - *MAGNUM IGNOTUM*

ALCHEMY IN THE CONTEMPORARY WORLD – *MAGNUM IGNOTUM*

АЛХИМИЯ В СОВРЕМЕННОМ МИРЕ – *MAGNUM IGNOTUM*

VINOKUROV, Vladimir V.*; VORONTSOVA, Marina V.

Lomonosov Moscow State University
11 Mochovaja str., 125009 Moscow, Russian Federation

** Corresponding author*
ierosph@mail.ru

Received 12 June 2018; received in revised form 19 November 2018; accepted 23 November 2018

RESUMO

A alquimia na consciência moderna deixou de ser percebida como uma falácia científica que levou a uma massa de tentativas infrutíferas de obter a pedra filosofal, isto é, alguma substância através da qual se pode transformar chumbo em ouro. Nas obras modernas artísticas, filosóficas e psicológicas, a alquimia está presente como um fenômeno cuja essência é misteriosa e incompreensível, ou está perdida. A alquimia e a pedra filosofal hoje na sociedade são percebidas como *Magnum ignotum* (o Grande Desconhecido). Essa percepção deve-se, entre outras coisas, à diversidade de abordagens para estudar a alquimia e seus fenômenos.O objetivo do artigo é apresentar a diversidade de abordagens historicamente desenvolvidas para o estudo da alquimia.O artigo tenta aplicar o método da fenomenologia da religião à alquimia. A fenomenologia enfatiza, antes de tudo, uma relação estrutural, e não histórica. O método fenomenológico de investigação encontra concretização na representação geométrica da estrutura da alquimia, que se correlaciona com a estrutura de investigação desse fenômeno.O artigo mostra que a diversidade de abordagens reflete a topologia especial do fenômeno da alquimia, que possibilita obter suas várias seções geométricas e considerá-las separadamente, mas nenhuma delas abrange o fenômeno da alquimia como um todo.Os materiais do artigo podem ser úteis para uma compreensão histórica dos motivos para o desenvolvimento da ciência.

Palavras-chave: estudos da alquimia, fenomenologia da alquimia, psicologia da alquimia, estrutura da alquimia.

ABSTRACT

Alchemy in modern consciousness ceased to be perceived as a scientific fallacy which led to a mass of fruitless attempts to obtain the philosopher's stone, that is, some substance through which one can turn lead into gold. In modern artistic, philosophical and psychological works alchemy is present as a phenomenon the essence of which is mysterious and incomprehensible, or is lost. Alchemy and the philosopher's stone today in society are perceived as *Magnum ignōtum* (the Great Unknown). This perception is due, among other things, to the diversity of approaches to studying alchemy and its phenomena. The purpose of the article is to present the diversity of historically developed approaches to studying alchemy. The article attempts to apply the method of phenomenology of religion to alchemy. Phenomenology emphasizes, first of all, a structural relationship, rather than a historical one. The phenomenological method of investigation finds concretization in the geometric representation of the structure of alchemy, which correlates with the structure of the investigation of this phenomenon. The article shows that the diversity of approaches reflects the special topology of the phenomenon of alchemy, which makes it possible to obtain its various geometric sections and consider them separately, yet none of them embraces the phenomenon of alchemy as a whole. The materials of the article can be useful for a historical understanding of the motives for the development of science.

Keywords: studies of alchemy, phenomenology of alchemy, psychology of alchemy, structure of alchemy.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

АННОТАЦИЯ

Алхимия в современном сознании перестала восприниматься как научное заблуждение, которое вело к массе бесплодных попыток получить философский камень, то есть какое-то вещество, при помощи которого можно превратить свинец в золото, и при помощи последнего обрести владычество над миром. В современных художественных, философских и психологических произведениях алхимия присутствует как феномен, сущность которого таинственна и непонятна, или же утрачена. Алхимия и философский камень сегодня в обществе воспринимается как *Magnum ignōtum* (Великое неизвестное). Это восприятие обусловлено в том числе и многообразием подходов к исследованию темы алхимии и ее феноменов. Цель статьи представить многообразие исторически сложившихся подходов исследования алхимии. В статье сделана попытка применения метода феноменологии религии к алхимии. Феноменология акцентирует, прежде всего, структурную связь, а не историческую. Конкретизацию феноменологический метод исследования находит в геометрическом представлении структуры алхимии, которое соотносится со структурой исследования этого явления. В статье показано, что все многообразие подходов отражает особую топологию феномена алхимии, позволяющую получать его различные геометрические сечения и рассматривать их отдельно, но ни одно из них не охватывает феномен алхимии в целом. Материалы статьи могут быть полезными для исторического понимания мотивов развития науки, к исследованию отношения науки и религии, когнитивных исследований.

Ключевые слова: эзотерические учения, исследования алхимии, феноменология алхимии, психология алхимии, структура алхимии.

INTRODUCTION

Accentuating the image of the alchemist and his search, modern literature offers an unusual twist of the story – the search is more important than the Stone, and what is meant by the Stone will be revealed only at the end of the search.

In the philosophy of the twentieth century, the alchemical theme continues in the works of René Guénon (1886-1951) (Guénon, 2004) and Julius Evola (1898-1974) (Evola, 1995). Ludwig Wittgenstein mentions the topic of alchemy in the 'Notes on the basics of mathematics' (1941/1944): "One can speak of a kind of alchemy in mathematics" (Wittgenstein *et al.*, 1974, p. 274).

Alchemy plays a significant role in the deep psychology of C.G. Jung (1875-1961) (Jung, 1980) and his followers (Franz, 1980), in the religion and phenomenology of Mircea Eliade (1907-1986) (Eliade, 1991). It is possible to find certain parallels between alchemy and the religious and philosophical views of P. Teilhard de Chardin (1881-1955). Finally, in the modern world, there are alchemical schools and laboratories in which the students of the alchemists of the past and the present are trying to reproduce the Great Work and get at least a new generation medicine, if not the philosopher's stone itself.

Nowadays the topic of alchemy is widely represented in art and popular science fiction. Modern artistic and scientific-publicist literature attracts attention not so much to the philosopher's stone as to the protagonist searching for it, to the alchemist. In other words, modern prose emphasizes not the object of the Great Work but its subject. Alchemy and the philosopher's stone are present in the popular series of novels for children and young people by Joannne Rowling about Harry Potter, 'the boy who lived'. The first book, which brought the writer world fame, was devoted to hiding the philosopher's stone – the central object and purpose of alchemy – from the forces of evil. The alchemist, his formation, search and 'transmutation' is the subject of a series of alchemical novels by Gustav Meyrink (1868-1932). It must be said that the work of Meyrink stands out among other works on the topic. The very sequence of novels reproduces the order of the operations of the Great Work: nigredo → albedo → rubedo (black, white, red).

The historical prototypes of the characters of most of the works of art are some ancient magicians and alchemists (more precisely, their images and legends about them) who received

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

their mastery from the Egyptian god of magic Thoth. These are the alchemists of the Middle Ages: Ramon Llull (1232-1316) and Nicolas Flamel (1330-1418), scientist, doctor and magician of the Renaissance Paracelsus (Theophrastus Bombast von Hohenheim (Paragranum, Paramirum, 1493-1541)), and alchemist and clairvoyant of the Elizabethan era Edward Kelly (1555-1597). The most famous characters of the XVIII century are Count Saint-Germain (1710-1784) and Count Alessandro di Cagliostro (Giuseppe Balsamo (1743-1795); it is noteworthy that the images of the latter against the backdrop of the successes of the natural sciences acquire the features of wickedness.

Alchemy in modern consciousness ceased to be perceived as a scientific fallacy which led to a mass of fruitless attempts to obtain the philosopher's stone, that is, some substance through which one can turn lead into gold and with the help of the latter gain dominion over the world. In all the above works, alchemy is present as a phenomenon the essence of which is mysterious and incomprehensible or is lost. Alchemy and the Philosopher's Stone today in society is perceived as Magnum ignōtum (the Great Unknown).

METHODOLOGICAL FRAMEWORK

The topic of alchemy in the history of culture and religion and its significance in the modern world, as already shown above, attracted the attention of representatives of various fields of knowledge. As a result of this work, different approaches were formed, and each achieved significant results. Each direction creates an image of alchemy from its own point of view, from its own perspective. Together they form a class of studies of the alchemical tradition and, accordingly, can be classified and partly structured on the basis of their approach. The research further on is presented within the framework of the 'approach-object' double coordinate system. Therefore, any study is presented as a function of f (x, y). Thus, understanding what the philosopher's stone is and the elixir of immortality depends on what practice one calls alchemy. All the approaches see their subject as a projective image, that is, from a certain point of view. 'The Philosopher's Stone' is a phenomenon including an imaginary component that completes 'what we see' up to 'what we understand'.

LITERATURE REVIEW

At present, several academic approaches to the study of alchemy emerged in Western religious studies. First of all, in these works, studies of alchemy are placed in the circle of studies of 'esotericism'. Second, the question of studying alchemy shifts to the question of classifying academic research (whether the study is scientific or unscientific), and of classifying researchers (scientists or esotericists). This definition was investigated in the works of the Amsterdam religious scholar Wouter J. Hanegraaff (2013).

In the studies of Western esotericism, Hanegraaff identifies several models:

the first model contrasts the natural philosophy of the early Modern Age with rationalism and science (Antoine Faivre, Frances Yates);

the second '(post) modernist' model views 'occultism' as a strange phenomenon of modern culture, blurring the contradiction between the imagined and the real;

the third – the model of the 'hidden tradition', is most often characterized as 'religionism', it is possible to search for truth not only by scientific methods (Mircea Eliade, Carl Jung, Henri Corbin, Arthur Versluis), for example, depth psychology (Hanegraaff, 2013, p. 11 - 12).

The application of the concept of Hanegraaf, its verification and the historiography of authors and works corresponding to different models was undertaken by Nosachev (2015). He notes that the concept of Hanegraaff was continued in the works of Steven M. Wasserstrom (1999) and Kocku Von Stuckrad (2009), which introduces the clarification of the term 'religionism' with the help of the term 'mystocentrism', according to which the essence of religion should be found in a mystical experience (Nosachev, 2015).

Steven Wasserstom, Kocku Von Stuckrad and Pavel Nosachev (Nosachev, 2015, pp. 25-28; Stuckrad, 2009, p. 46; Wasserstrom, 1999, p. 234) include Gershom Scholem, Henri Corbin, Mircea Eliade, Martin Buber and Carl Gustav Jung in the 'mystocentrism', uniting them in the so-called Eranos Circle. The question is how critical the unification of their views is because such combination of views erases the boundary between religion and its study, between

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

psychology, culture, and mysticism.

Jung in his letter to Robert C. Smith, on June 29, 1960, noted the following:

"Buber and I start from an entirely different basis: I make no transcendental statements. I am essentially empirical, as I have stated more than once. I am dealing with psychic phenomena and not with metaphysical assertions. Within the frame of psychic events, I find the fact of the belief in God. It says: “God is.” This is the fact I am concerned with. I am not concerned with the truth or untruth of God's existence. I am concerned with the statement only, and I am interested in its structure and behavior. It is an emotionally ‘toned’ complex like the father or mother-complex or the Oedipus complex. It is obvious that if a man does not exist, no such statement can exist either, nor can anybody prove that the statement ‘God’ exists in a non-human sphere. <…> How does Buber know of something he cannot ‘experience psychologically’? How is such a thing possible at all? If not in the psyche, then where else? You see, it is always the same matter: the complete misunderstanding of the psychological argument: ‘God’ within the frame of psychology is an autonomous complex, a dynamic image, and that is all psychology is ever able to state" (Jung *et al.*, 1990, pp. 570-572).

Jung defined his position as psychological empiricism but in no way as ‘mystocentrism’. Psychological empiricism establishes an obstacle on the path of ‘mystocentrism’. In the quoted letter of Jung there is an additional explanation of his position: "If Niels Bohr compares the model of the atomic structure with a planetary system, he knows it is merely a model of a transcendent and unknown reality, and if I talk of the God-image I do not deny a transcendental reality. I merely insist on the psychic reality of the God-complex or the God-image, as Niels Bohr proposes the analogy of a planetary system. He would not be as dumb as to believe that his model is an exact and true replica of the atom. <> Buber criticizes me in a field in which he is incompetent and which he does not even understand" (Jung *et al.*, 1990, pp. 572 – 573).

In this letter, Jung admits a conjunction in relation to his statements with the transcendental reality ‘p ^ ~ p’, nevertheless, he does not allow contradiction in the field of psychology, since he does not at all relate his statements to the transcendental reality itself and does not solve the question of the truth of his statements in the transcendental area. With respect to the transcendental reality, Jung's statements are not a contradiction but a tautology, that is, they do not say anything about it. While the use of the terms ‘religionism’ and ‘mystocentrism’ implicitly relates it to the reality of religion or mysticism.

In the antiphenomenological approach, there is a contradiction: that which is a psychological fact for Jung is uncritically projected into reality, while the question under what conditions this is possible remains unresolved.

RESULTS

With regard to alchemy, the question arises: how psychological reality could be projected into actual reality, how could psychology appear as chemistry? This is possible if the world of psychological phenomena has something in common with the real world. This formulation of the question requires the unification of the second and third models of alchemic research since the contradiction is removed by introducing the concept of ‘possible world’. The ‘possible world’ is simultaneously an ‘imaginary world’. The difference between these worlds is not revealed a priori but only when they are compared with reality. The presence of alchemic texts, sentences and formulas does not mean the presence of the philosopher's stone. However, this state of affairs requires the projection of proposals for reactions. Reading the alchemic text, we understand only what is projected but not what was projected. To understand what was projected means to understand the meaning of the alchemic propositions, i.e., to answer the question which an alchemist is. This approach requires consideration of the projections of alchemy which are presented in the historically developed concepts of this phenomenon.

DISCUSSION

Alchemy, like any other esoteric discipline, is oriented towards ‘tradition’, and the latter can be understood widely, including myths, superstitions, legends, parables, etc. Thus, Paracelsus, collecting legends, learned from ‘ignorant’ healers and fortune-tellers and claimed

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

that they were much more significant for his medical research than contemporary 'scientific' works. Paracelsus described this difference with the help of the terms experiment and experience, which includes an understanding of the things in themselves (Paracelsus, 1993, pp. 68-74). Science is based on experiment, and folk tradition on experience, on the knowledge inherent in plants, animals and man, on a person's ability to understand those. In accordance with the esoteric tradition, the task of science is not to be separated from the ancient beliefs, but, on the contrary, to be united with them, as it once was, while the esotericists refer to the Sumerian collection of medical prescriptions deciphered in 1955 (2200- 2100 BC) (Folta and Novy, 1987, p. 29), as well as to the Egyptian medical papyrus (Ebers Papyrus circa 1500 BC), in which "magical and rational medical prescriptions are given together" (Smirnova, 2004, p. 5).

In the Middle Ages and up to the Modern Age, alchemy was part of the body of 'sciences' and doctrines which were called Hermetic, named after the Greek god Hermes, attributed to the art of divination (here: foresight) and the art of interpreting the will of the gods (hermeneutics). Functionally, Greek Hermes corresponded to Egyptian Thoth, the master of the art of magic, the hidden 'words of power', the utterance of which engendered an irresistible action in the world around him. The place of the Hermetic complex and approach is between scientific and philosophical knowledge, and, on the other hand, magical and mythological relations to the world and man. Hermetic thought is addressed both to the past, to myth and magic, and to the present, as it attentively regards modern achievements of science and philosophy. Marcelin Berthelot, studying alchemy, generalizes this point of view in relation to the subject of interest, noting that alchemy is on the verge of magic and science, being a transitional stage between them.

The Hermetic doctrine of alchemy was based on the postulate of the Emerald Tablet by Hermes Trismegistus: "What is below is like that above, and that which is above, is like the one below. And all this only in order to accomplish the miracle of one" (Ruska, 1926). Here, the originally ambivalent elements 'top', 'there-here', 'beginning-end', are brought into correspondence through similarity and then unite into one. 'Here' and 'below' are the beginning, 'there' and 'above' are the end, and 'above' is the beginning of the changes 'below'.

In other words, the Hermetic doctrine is closed and the conclusion follows: a change in the bottom will cause a change at the top and a change at the top will cause a change at the bottom. There is an infinite chain of mutually closed changes. When the beginning and the end are united, the result is the circle that lies at the base of the Hermetic (esoteric) teachings. The basis of the unity of the 'top' and the 'bottom' is the similarity, and the principle of similarity is underlying for the imitative magic: similar affects similar, generates similar, is dissolved in similar, is killed by similar, and is cured by similar.

Any tradition at a certain level of development, in order to take the next step, turns to the study of itself, realizing the reflection of its sources, bases, concepts, and methods. This approach is denoted by the word 'traditional'. For the present study this group of materials, on the one hand, acts as sources, on the other hand, as research, that is, the study of esoteric teachings is undertaken in them with the aim of continuing the tradition, often through interpretation and reinterpretation of their concepts and principles. The research side, of course, is not present in all works, yet it already occurs with ancient and medieval thinkers. Plato's dialogues '*Phaedrus'* (Plato, 1989, pp. 65-66: 274, c-d) and 'Philebus' (355 BC) contain an interpretation of the image of the Egyptian god Thoth, and already Plato transforms his image into a legend, the elements of which will firmly enter the esoteric constructions where he is considered the founder of the collegium of the priests of Ancient Egypt, who initiated the Hermetic tradition. Plutarch gives the Greek interpretation of the myth of Isis and Osiris, providing important information for this topic, but at the same time intertwines it with Greek mythology.

In the Middle Ages, during the Renaissance and the Modern Age, the interpretation of the sources and foundations of the Hermetic tradition was continued in attempts to interpret Hermetic texts through Egyptian and Greek mythology and through the ancient Egyptian hieroglyphic writing. The understanding of the practice of alchemy is found in the works of Albertus Magnus (1193-1280) and Basilius Valentinus (XVI century). The alchemical interpretation of Egyptian and Greek mythology is presented in the works of Dom Antoine-Joseph Pernety (1716-1802).

The traditional works on the alchemy of the XX century include Fulcanelli, & Sworder, 1984; Fulcanelli, 1999, Baulot, Canseliet, & Flouret,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

2005; Canseliet, 2010 , D'Ygé, 1954); the works by Butuzov (Butuzov, 2006) also adjoin to the traditional approach.

The second trend of traditional alchemy is rather connected with the search for an 'elixir of immortality' and focuses on the preparation of tinctures which have therapeutic and curative effects. Such tinctures and elixirs were prepared by Paracelsus, becoming the founder of iatrochemistry (from the Greek iātralīptēs – a doctor doing the inunction).

Currently, schools related to this area of alchemy exist in the United States, lead by Frater Albertus Spagyricus (Albert Riedel), head of the Paracelsus Research Society. Albus Zelator gives a collection of recipes and methods of preparation in his book. This trend of alchemy is developing in Russia as well - in Dagestan, Makhachkala the society 'Avicenna' operates at the Caucasian Secular Institute, which ''... on the basis of ancient recipes invented a balm (an ointment), which should be rubbed onto the body. Penetrating through the pores, it opens them, speeding up the revival, that's why it is called 'Reviver'. 'This balm', say the authors 'we tested on injured athletes, and it was highly appreciated. Let them not suspect us of dirty commerce, so widespread now. Making a balm is very laborious and expensive; in time, we will present it to the poor for free'' (Magomedov *et al.*, 2009, p. 47).

The traditionalist approach is represented by the works of R. Guénon and J. Evola. "Alchemy is an art invented by alchemists," said Albertus Magnus (1980, p. 350). Therefore, first one needs to look for an alchemist dedicated to the Tradition of Alchemy, and then for the philosopher's stone. Traditionalists try to carry out by means of philosophy the authentic reconstruction of the Great Work, to understand it as it was understood by the alchemists, thereby uncovering the 'secret of alchemy'. From the point of view of the traditionalist approach, the philosopher's stone exists, although it is not very clear what it is, it should be sought in the unity of the subject and object, that is, there is a subjective component in the alchemic work. In other words, to get the Stone, you need a true Alchemist; if there is no alchemist, there is no stone.

The enlightenment approach in the field of alchemy is evident in the works of the medieval scholar Georgius Agricola (1494-1555), in the writings of the French enlighteners of the XVIII century Voltaire and Diderot, Ernst Mayr, N.A. Figurovsky. The Enlighteners considered alchemy, astrology, magic the result of the delusion of some and the deception of others. This approach remains quite popular today, although it does not agree with the scientific study of Hermetic phenomena. From the point of view of modern research, a part of the historical phenomenon here stands out for the whole: pars pro toto (i.e., there is a logical error: 'Part instead of the whole'). In any case, the enlightenment approach is far from indiscriminate criticism and relies on common sense and natural science.

The scientific-educational approach, combining the educational point of view with the scientific criticism of the educational approach, was formed, oddly enough, in the study of alchemy (it would seem that astrology is closer to this intention), and views the latter as a stage in the development of chemistry. It is this approach which combined the ideas of the Enlightenment with natural science and its history and became the basis for the formation of a classical view of the Hermetic tradition. It was revealed in the writings of R. Boyle, M.S. Khotynsky, M. Berthelot, M. Giua. This approach is based on the reality of the object of alchemy, proving that it is indeed real and that behind the curtain of illusions and allegories lies the 'solid body' of chemical transformations and very unusual experiments of physics. The authors do not reject the fraud of magic, but in a number of cases see deeper grounds for occult phenomena.

In this connection, the position of the founder of chemistry Robert Boyle is typically characteristic. He tried to carry out an alchemically inverse transmutation, that is, not to turn lead into gold but, on the contrary, gold into lead. Naturally, such operation could not bring financial dividends in the form of gold bars and the resulting wealth. From a financial point of view, this enterprise is useless. The value of the reverse 'transmutation' for science and for the scientist blocked the meaning of wealth, but the nature of metals could neither be improved nor worsened.

The works of this direction in the study of magic reveal that a number of cases referred to as 'magic miracles' are not a question of conscious fraud and deception, but of sensory illusions and the use of unusual phenomena created by the laws of acoustics and optics, that is, in fact, about the experimental comprehension of these phenomena. One hardly dub a charlatan the person mastering the possibility of focusing

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

the sound signal in a place different from its actual source ('ventriloquism'), and at the very best have an extremely vague idea of the laws of acoustics, if none at all. This person would find themselves (if such an experience occurs spontaneously) that someone else, invisible and unknown, spoke to them. It is equally difficult to imagine that one can lower your hand into molten iron and remove it unscathed, and yet such trick had a rigorous scientific basis and was well studied in the 19th century (Khotinsky, 1866, p. 254).

This approach is focused on desacralizing the content of ancient and medieval 'dark' texts, to identify in them a scientific component and reformulate in modern scientific language the problems they solve. Rational and scientific components of alchemy are considered from the point of view of the history of thermodynamics in a collective monograph devoted to the history of teachings on chemical processes, where it is shown that the basis for a number of alchemic experiments is the absolutely correct scientific idea of the thermodynamic effect of a chemical reaction (History ..., 1981).

One can give a 'thermodynamic' interpretation of the following alchemical fragment. Describing the stages of the Great Work, alchemists widely use metaphors, legends and various forms of allegory. XVI-XVII century alchemist Michael Maier in 'Atalanta fugiens' (1618) characterizes the first stage – nigredo – by the following allegory: "Put (a cold – V.V.) toad on a woman's breast so that she fed it; the woman will perish, but the toad will grow mighty" (Maier, 2004, p. 69). The alchemists knew that thermal effects almost always accompany chemical changes, so the absorbed heat of the woman must make some 'chemical' changes in the toad's body, as the toad remains cold until all the warmth of the woman has passed to it. The reaction in the toad's body means a chemical reaction that takes place in a closed vessel with heat absorption, which, as it were, is condensed, is collected inside the vessel, from the outside it passes inwards. This is how the Philosophical Sulfur is formed, from which they prepare the Elixir. If the frog's body does not heat up, and the heat continues to be absorbed, it means there is chemical or biochemical synthesis inside it.

The scientific-historical approach represents the development of the scientific-educational approach, supplementing it with archaeological and textual research.

The educational-hypothetical approach is a complex synthetic inversion of the scientific-historical and educational approaches. It is formed, on the one hand, holding an educational setting with regard to the problem of Hermetic teachings, and on the other hand, as a hypercritical attitude towards the Enlightenment. Thus, its authors seek enlightenment, pointing out a problem that stayed out of the sight of science, and even seek to expose the incorrect actions of scientists, charging them with bias in the analysis and selectivity of materials, and at the same time, they speak of the 'dark core' of Hermetic teachings which was formed in the depths of history and manifested in social and individual psychology. This is the 'shadow of the Enlightenment'. This approach is close to psychoanalysis in relation to the subject of science, i.e., community of scientists, and first of all, historians.

Science, bringing the enlightenment to its logical conclusion, allowed noticing this 'indivisible nucleus', the 'shadow' that disappears whenever science explores its object or whenever there are attempts to grasp it with the help of scientific methods, but at the same time, it finds, covers and captures new areas of knowledge, lives in the secrets of history and social psychology, in the depths of the individual and collective psyche. In studies of esoteric disciplines, it manifests itself as an unexpected hypothesis, requiring it to be included in the structure of scientific research. The works undertaken in this direction include the works of Weidner and Bridges (Weidner *et al.*, 2003), R. Bauval and A. Gilbert (1994), M. Baigent and R. Leigh (2005). A clear artistic illustration of the application of this approach is Dan Brown's bestsellers.

The natural-scientific approach develops, first of all, in the context of scientific revolutions of the 17th and 20th centuries. The attitude of modern physicists and chemists toward alchemy can be characterized as 'cautious'. Transmutation involves nuclear transformations, yet the alchemists did not know anything about the structure of the atomic nucleus, did not have modern equipment and were unable to carry out nuclear transformations and release the nuclear energy necessary for the transmutation of metals. Their practice was contrary to the experimental method of successive operations which presupposes a controlled change in at least one of the factors. The alchemist repeats the same operation endlessly, changing nothing in it, his

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

actions are compared with the process of washing clothes with the art of 'washerwomen' which was expressed in the title of the main work of Nicolas Flamel – 'The Book of Washing'. Thus, the alchemist deals, from the point of view of scientific enlightenment, with a senseless thing. However, it turns out it is not quite so, from the point of view of the 'natural history of man' by L. Wittgenstein (Wittgenstein *et al.*, 1974, p. 92).

L. Wittgenstein characterizes the process of obtaining an infinite series as 'mathematical alchemy' where the mathematician repeats the same operation to obtain an infinite series. After all, we do not know an infinite series, but we know the operation of obtaining it. However, if it is a question of obtaining the approximation of the number 'π', it is necessary each time to re-construct the cross-sections of the areas of inscribed and circumscribed circles.

The classical approach to alchemy is formed on the basis of educational, scientific and historical approaches, but is complemented by the philosophical idea of the objective development of religion, history, society, and science. It is formed under the influence of German classical philosophy of the XIX century, primarily the works of G.W.F. Hegel. Hermetic doctrines here appear as a stage of an objective process which is cognition of nature and society, the gradual formation of rational (logical-discursive) thinking and scientific research of nature and society, the liberation of cognition and human activity from magical, religious, mystical and ritual-symbolic components. Alchemic teachings and practices act as a whole, in which the intertwined and interacting magic, religion, science, and art, not yet separated from each other, form the 'sacral-cognitive complexes'. From this point of view, progress in one area of the complex should lead either to the evolution of representations in other areas of the whole or to the displacement of its constituents to the periphery and liberation from them. This approach is implemented in historical studies, supported by philosophical and religious studies and ideas.

With the implementation of the classical approach in the study of alchemy, the latter demonstrated greater flexibility. What was discarded by science in the study of alchemy and astrology proved to be viable and found other applications. This suggested that either there is an undefined, and possibly indivisible, integrity within alchemy, or the 'remains' of alchemy that have not found the interpretation in chemical processes (lions, dragons, eagles, hermaphrodites, etc.) retain their significance and can be meaningfully used, having a different field of application than the chemical process. Psychology became this area thanks to the work of Jung.

The psychological interpretation of C.G. Jung occupies a special chapter in the historiography of alchemy. At present, the works of Jung on alchemy is usually classified into those that constitute the 'small alchemic cycle', and those that form the 'great alchemical cycle'. The former includes works which compile the corpus 'Alchemical studies' (Jung, 1990); the latter includes 'Psychology and alchemy', '*Mysterium Coniunctionis*', 'Aion'. Studies of alchemy in a psychoanalytic manner are continued in the works of disciples and followers of Jung (Mathers, 2014). According to Jung, a true understanding of alchemy can be achieved, first of all, if one abandons its chemical interpretation. If one just once asked whether the chemical intention of alchemy was genuine, that is, whether the adepts of the royal art were true chemists or simply using chemical jargon, then the texts themselves would eloquently suggest the need to consider alchemy from a different angle, from a purely chemical interpretation of it" (Jung, 1990, pp. 204-205). Taken with respect to esotericism and alchemy, Jung's statements about psychology ('p') take the form of disjunction "p$^{\vee}$ ~ q' ('q' - chemistry), where the class of utterances 'p' which includes part of the statements from the class of utterances 'q' ("it is impossible to obtain the philosopher's stone by chemical methods") will be common. Then, under the philosophical stone one can consistently understand something relating to psychology, to the class of 'p' utterances. In other words, the philosopher's stone was searched not in the place where it exists; and it exists in the minds of alchemists – this is a fact.

Jung's approach emphasizes the subjective component, understanding it as a component of the psychological. The latter, in turn, is represented by the individual and collective properties of the subject, within which the archetypal ones are distinguished, which represent the object within the subject. The subject of alchemic doing 'The *Spirit* Mercurius' in the eponymous work of Jung is regarded as a spirit enclosed in an artificial body – a bottle, and this foreign body is incorporated into the human psyche and for the time being is undetected and

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

unknown there (Jung, 1990, pp. 193-203).

The prerequisites of his concept Jung saw in the imaginative approach to the search for the philosopher's stone in alchemy. An approach linking the activity of the imagination with the search for the philosopher's stone or the elixir of immortality was formed by Paracelsus. Alchemy, according to this point of view, is based on the ability of the imagination.

One of the names of the philosopher's stone is 'projection powder'. At a certain stage of alchemy, the adept must project a substance in a hermetic vessel, an image from the depths of his imagination and memory. Paracelsus paid attention to the fact that the imagination penetrates the body; thus, the pictures of the imagination of the future mother influence the child: "As in vitriolo (here: copper), the imaginary (imprinted) is imprinted (minted) with the help of imagination. This is the imprint of the light of nature (luminis naturae), and there are rays (radiance), which are imprinted in you, imprinted with the power of imagination" (Paracelsus, 1993, pp. 74). True, imagination should be distinguished from fantasy; in the latter case, imagination is subject to reason. Imagination by Paracelsus is the power of the soul produced by active consciousness and will.

The magical-erotic and sensual aspects of the imaginative approach to alchemy are presented on the basis of work with the documents of the 'Golden Dawn' by Israel Regardie. Israel Regardie (1907-1985) is an authority in the field of magic and Hermeticism, continuing the tradition of the 'Golden Dawn', regarded alchemy as "a secret form of practical magic" (Regardie *et al.*, 2010, p. 369). If Jung considered magic as psychology, then the magical-psychological approach of Israel Regardie is aimed at solving the directly opposite problem, it presents psychology as modern magic, thereby regressing into the past and gross.

Regardie notes, based on the work of alchemists and Hermeticists that alchemy uses two magic tools, namely, a round crystal vessel (retort) and a furnace (alchemic Atanor); the former represents the female aspect of sexuality, the second represents the male aspect. In obtaining 'gold', two substances participate, one of which is male, the other female, "... they are called: Serpent, or Blood of the Red Lion, and Tears, or Gluten of the White Eagle. <...>. These two substances are, in fact, the products of Lion and Eagle" (Regardie *et al.*, 2010, p. 374).

The unification of the male and female as the 'alchemic marriage of the Moon and the Sun' should lead to 'alchemical gold' or the Dew of Immortality, which is used in further magical operations of ritual and talismanic magic. "The supreme power acting in this technique is love ... The power of love directed by Will and guided by the Soul" (Regardie *et al.*, 2010, p. 376). Regardie pays special attention to the theurgical aspect of the whole operation, namely, the utterance of divine names and prayer: "All the authorities in the field of alchemy who have considered this method agree on a single opinion – it is unique in its essence and gives amazing results, but only in combination with prayers. It turns out that during the operation or mass, while the flame is burning in the Atanor, the theurgist should tirelessly pray, that is, either mentally or read the spells aloud" (Regardie *et al.*, 2010, p. 378).

In the 'Golden Dawn' reincarnation of alchemical ideas started in the context of a wide range of Hermetic, kabbalistic and esoteric texts, which leads to the transfer of the alchemic operation from the world of the chemical laboratory to the sphere of sexual ritual magic (Kraig, 2011).

CONCLUSIONS:

The phenomenological approach makes it possible to single out, as an object of study, the legend of the alchemist and the philosopher's stone. The legend is related to myth, yet it is not formed around gods and their actions but around the historical core, the historical personality. It is akin to an alchemic reaction, in which there is a chemical basis, yet this historical core is surrounded by a 'nebula'.

Dealing with the legend, there is a great temptation to assume that the protagonist, from the point of view of history, is a collective character, that is, the same legend incorporates various historical figures, it 'roams' through history and geography. However, between the characters and their stories, the legend establishes symmetry and correlation, forming structural connections. This is similar to the difference between the physical and mathematical points that lie on the time and space line. From the standpoint of mathematics,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

each point of the space-time continuum is different from the other, from the standpoint of physics, this is not possible. The paradox is that if one admits the actual width of a point or the length of a segment, then the width and length (physical quantities) can exist only if the close points are indistinguishable. If Point A can be distinguished from Point C (A <C), but Point B cannot be distinguished from either Point A (A = B) or Point C (B = C), then this relation will make Points A and C non-distinguishable. The initial inequality turns into an equation:

A<C. A = B. B = C∴A = C.

The legend makes historical and mythological characters indistinguishable and unites them into one. Historical research is aimed at distinguishing all the points, and the more subtle instruments are used, the more points will be found on the line. Consequently, this side of the problem is connected with the problem of measurement and therefore, assumes that we are dealing with the metric space of history. Yet along with the paradox of a physical point, there is the paradox of a mathematical point located on a series. It arises as a result of dividing a straight line by a circle. The circle divides the points 'X = k √ 2' into two classes: upper and lower. A measurement attempt will lead to it alternately appearing in one class, then in the other. The break point will slip away and is always between the upper and lower classes, history and myth. It will be a 'flickering' concept (L. Wittgenstein), appearing here and there. This means that in the history of man the real and imaginary events form symmetrical structures. In this one can see the essence of the phenomenon of alchemy.

The most important here is the notion of a 'section' of *Dedekind* s theorem. The section is a key concept of topology and topological models; it is fully adapted in the classical phenomenology of religion and esoteric teachings. Here it is important to show its application in studies of alchemy. The scientific and educational approach cut alchemy, separating the chemical component from it, discarding the rest. It is possible to determine the chemical content of alchemy as the lower class in the cross section. Yet the traditional and culturological models stood firmly, insisting on the integrity of this phenomenon. Quite unexpectedly, Jung conducted a different section of alchemy, singling out the deep-psychological content of the phenomenon, discarding the chemical content.

From the point of view of topology, the phenomenon of alchemy has a very strange configuration, which involves two closed curves to obtain a section of its surface. As Henri Poincare demonstrated, this is the definition of the surface of the Riemann torus. The sphere does not satisfy this condition; thus, the psychological and chemical aspects are projective images of one phenomenon. It 'flickers', passing from one class to the other without being damaged. The most important symbol of the elixir of immortality – Uroboros (a snake biting its tail) – is a graphic illustration of the geometric figure of the torus.

RECOMMENDATIONS

The materials and conclusions of the paper are of interest for historians of science, philosophers dealing with problems of science and religion, psychologists and religious scholars, and can also be used in psychotherapy.

REFERENCES:

1. Aguilar, J. C.; Rodrıguez, E. G.; Vaccine adjuvants revisited; *Vaccine* **2007**, 25, 372.
2. Albertus Magnus; *Libellus de Alchimia,* Nauka: Moscow, 1980.
3. Ananich, I. V.; Derkho, M. A.; Kontsevaya, S. Y.; Biochemical indices of rats' blood. *Veterinarnaya Klinika* **2008,** 10, 35.
4. Baigent, M.; Leigh, R.; *The elixir and the stone,* Random House Canada, 2005.
5. Basilius Valentinus; *Alchemical treatises,* Avtograf, 2008.
6. Baulot, I.; Canseliet, E.; Flouret, J.; *Lalchimie et son "Livre muet": Mutus liber,* Gutenberg reprints: Paris, 2005.
7. Butuzov, G.; *Alchemy and tradition: Articles of 2000-2005;* V.G.: Moscow, 2006.
8. Canseliet, E.; *Nouvelles études diverses de symbolisme hermétique et de pratique philosophale,* G. Trédaniel: Paris, 2010.
9. Chernikova, M. I.; Kashirina, O. S.; Vasiliev, Y. M.; Comparative study of immunogenicity of adjuvants of different nature and action mechanism on the model of inactivated flu vaccine; *Zhurnal*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunologii **2015,** 6, 63.

10. D'ygé, C.; *Nouvelle Assemblée des Philosophes Chymiques. Aperçus sur le Grand-Oeuvres des Alchimistes. Préface de Eugène Canseliet,* Dervy-Livres: Paris, 1954.
11. Edelman, R.; Vaccine Adjuvants; *Rev. Infect. Dis*. **1980,** 2, 383.
12. Eliade, M.; *Alchimia asiatica,* Humanitas: Romana, 1991.
13. Evola, J.; *The Hermetic Tradition. Symbols & Teachings of the Royal Art,* Inner Traditions International: Rochester, VT, 1995.
14. Folta, Ya.; Novy, L.; *Natural History in dates*, Progress: Moscow, 1987.
15. Franz, Marie-Louise von; *Alchemy: An Introduction to the Symbolism and the Psychology Studies in Jungian Psychology,* Inner City Books: Toronto, 1980.
16. Fulcanelli; *Alchemy. Christian art and symbolism. Architecture, Medieval,* Archive Press and Communications: Boulder, CO, 1999.
17. Fulcanelli; Sworder, M.; Fulcanelli; *Master alchemist: Le Mystère des Cathédrales, Esoteric interpretation of the hermetic symbols of the great work,* Brotherhood of Life: Las Vegas, NV, 1984.
18. Gilbert, A.; Cook, R.; *Orion mystery – unlocking the secrets of the pyramids,* Arrow Books, 1994.
19. Hanegraaff, W.; *Western Esotericism: A Guide for the Perplexed,* Bloomsbury Academic: London, 2013.
20. *History of the doctrine of the chemical process. Universal history of chemistry,* Nauka: Moscow, 1981.
21. Jung, □. G.; □dler, G.; Jaffé, □.; Hull, R. F.; *Letters,* Routledge: London, 1990.
22. Jung, C. G.; *Alchemical studies,* Princeton University Press: Princeton, NY, 1990.
23. Jung, C. G.; *Psychology and Alchemy,* Princeton University Press: USA, 1980.
24. Kabanov, V. A.; Petrov, R. V.; Khaitov, R. M.; A new principle of synthetic immunogen creation; *Zhurnal Vsesoyuznogo Khimicheskogo Obshchestva* **1982,** 27, 57.
25. Khotynsky, M. S.; *Witchcraft and mysterious phenomena in modern times,* Glazunov: St.Petersburg, 1866.
26. Kokhnovich, M. A.; Gribencha, S. V.; Mukhin, A. N.; Seliverstov, A.; Verkhovskiy, O. A.; Nepoklonova, I. V.; Aliper, T. I.; Estimation of different adjuvants' influence on antigenic activity of rabies vaccine for small domestic animals; *Materials of the 18th Moscow International Veterinary Congress on Diseases of Small Domestic Animals, Moscow* **2010**.
27. Kraig, D. M.; *Modern magic: Twelve lessons in the high magical arts,* Llewellyn Publications: St. Paul, MN, 2011.
28. Kravchenko, I. N.; Khokhlova, O. N.; Kravchenko, N. N.; Puzhalin, A. N.; Diachenko, I. A.; Murashev, A. N.; Hematological indices of free from pathological flora rats CD (Sprague Dawley) and mice CD1 n; *Biomeditsina* **2008**, 2, 20.
29. Magomedov, M. M.; Bedirhanov, N. V.; Gimbatova, T. M.; *Burying people ... alive and ... in millions,* CSI, Avitsenna: Mahachkala, 2009.
30. Maier, M.; *Runaway Atalanta, or New Chemical Emblems that reveal the Mysteries of Nature,* Enigma: Moscow, 2004.
31. Mathers, D.; *Alchemy and psychotherapy: Post-Jungian perspectives,* Routledge: London, 2014.
32. Nosachev, P. G.; *Renegade knowledge: The study of marginal religiosity in the XX and the beginning of the XXI century: historical and analytical study,* OSTGU: Moscow, 2015.
33. O'Hagan, Derek, T.; MF59 is a safe and potent vaccine adjuvant that enhances protection against influenza virus infection; *Expert Review of Vaccines* **2007**, 6(5), 699.
34. Paracelsus; *Labirintus medicorum errantium,* Stuttgart: Philipp Reclam jun. **1993**, 35.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

35. Petrov, R. V.; Kabanov, V. A.; Khaitov, R. M.; *Immunology* **1986**, 1, 5.

36. Petrov, R. V.; Khaitov, R. M.; Ataullakhanov, R. I.; *Immunogenetics and synthetic antigens,* Meditsina: Moscow, 1983.

37. Petrov, R. V.; Khaitov, R. M.; Ataullakhanov, R. I.; Molecular mechanisms of activation by oxitovpolyions. 1. Modification of transmembrane transport of cations; *Biologicheskiye Membrany* **1984,** 1(8), 599.

38. Petrov, R. V.; Khaitov, R. M.; Immune response to synthetic antigens; *Dostizheniya Sovremennoi Biologii* **1979,** 88(6), 307.

39. Plato; *Phaedrus,* Progress: Moscow, 1989.

40. Regardie, I.; Cicero, C.; Cicero, S. T.; *The tree of life: An illustrated study in magic,* Llewellyn Publications: Woodbury, Minn., 2010.

41. Ruska, J. *Tabula smaragdina ein Beitrag zur Geschichte der hermetischen Literatur,* Carl Winters Universitätbuchhandlung: Heidelberg, 1926.

42. Savina, S. V.; Ivashchenko, S. V.; Skornyakov, V. M.; Murtaeva, V. S.; The effect of synthetic adjuvant on the formation of the immune response; *International research journal* **2016**, 8-2(50), 42.

43. Savina, S. V.; Skornyakov, V. M.; Chastov, A. A.; Veselovsky, S. Yu.; Evaluation of reactogenic properties of chemical polyelectrolyte substance-adjuvant in experiment; *International research journal* **2017**, 5-2(59), 1; Guénon, R.; *Symbols of Sacred Science*, Sophia Perennis: Hillsdale, NY, 2004.

44. Smirnova, I.; *Mysteries of Magic*, Veche: Moscow, 2004.

45. Stuckrad, Kocku von; *Locations of Knowledge in Medieval and Early Modern Europe: Esoteric Discourse and Western Identities,* Brill: Leiden, 2010.

46. Wasserstrom, S.; *Religion after Religion: Gershom Scholem, Mircea Eliade, and Henri Corbin at Eranos,* Princeton UP: Princeton, 1999.

47. Weidner, J.; Bridges, V.; Weidner, J.; *The mysteries of the great cross of Hendaye: Alchemy and the end of time,* Destiny Books: Rochester, VT, 2003.

48. Wittgenstein, L.; Anscombe, G.; Rhees, R.; Wright, G.; *Bemerkungen über die Grundlagen der Mathematik,* Suhrkamp: Frankfurt am Main, 1974.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

FUNDAMENTOS TEÓRICOS PARA A DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL DE EROSÃO DO SOLO (CONCEITO DE ENERGIA) PARTE 1

THEORETICAL FUNDAMENTALS FOR DETERMINING SOIL EROSION POTENTIAL (ENERGY CONCEPT) PART 1

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕПРЕДПОСЫЛКИОПРЕДЕЛЕНИЯПОТЕНЦИАЛАЭРОЗИОННОЙСТОЙКОСТИПОЧВОГРУНТОВ (ЭНЕРГЕТИЧЕСКАЯКОНЦЕПЦИЯ) ЧАСТЬ 1

IvanI. Maksimov[1], NailR. Adigamov[2], AnasA. Mustafin[2], DamirT. Khaliullin[2], IlnarN. Gayaziev[2*], Alexandr V. Matyashin[2], Ruslan R. Lukmanov[2]

[1]Federal State Budget Educational Institution of Higher Education "Chuvash State Agricultural Academy", ul. Karla Marksa 29, Cheboksary, 428003, Chuvash Republic, Russia
[2]Kazan State Agrarian University, ul. Karla Marksa 65, Kazan, 420015, Republic of Tatarstan, Russia

** Corresponding author*
e-mail: gazel.81@mail.ru

Received 12 June 2018; received in revised form 30 November 2018; accepted 14 December 2018

RESUMO

A solução de problemas de tecnologia anti-erosão e projeto de maquinário está associada à descoberta de um parâmetro objetivo integral que atenda aos requisitos pirateados e desenvolva um método de determinação aceitável. Portanto, o objetivo da pesquisa é desenvolver um critério integral para determinar o potencial de erosão do solo (PES). Como um valor para caracterizar PES, é proposto usar energia exp∆ gasta para erodir e remover o peso unitário de uma massa de solo underm sob condições específicas de sua ocorrência. Consequentemente, o desenvolvimento de pré-requisitos teóricos para o problema em questão, bem como a determinação experimental de ∆A e ∆m, podem revelar as principais regularidades no mecanismo físico dos processos de erosão. Propomos usar o método do potencial termodinâmico para descrever os processos de erosão do solo. Tem sido demonstrado que o potencial termodinâmico de Gibbs é o mais adequado para este propósito, uma vez que é possível projetar dispositivos para a medição experimental de variáveis independentes. O PES é um valor aditivo e constante para um determinado solo e expressa as suas propriedades, isto é, pode ser adotado como um critério integral único para avaliar a resistência dos solos à erosão.

Palavras-chave: *solo, fluxo de água, erosão, método do potencial termodinâmico*.

ABSTRACT

Solving problems of anti-erosion technology and machinery design is associated with finding an integral objective parameter that would meet piratical requirements and develop an acceptable determination method. Therefore, the research objective is to develop an integral criterion to determine soil erosion potential (SEP). As a value to characterize SEP it is prosed to use energy ∆A expended to erode and remove the unit weight of a soil mass ∆m under specific conditions of its occurrence. Consequently, the development of theoretical prerequisites for the problem under consideration, as well as the experimental determination of ∆A and ∆m, can reveal the main regularities in the physical mechanism of erosion processes. We propose to use the thermodynamic potential method to describe soil erosion processes. It has been shown that the Gibbs thermodynamic potential is the most suitable for this purpose since it is possible to design devices for the experimental measurement of independent variables. SEP is an additive and constant value for a given soil and expresses its properties, i.e. it can be adopted as a single integral criterion for assessing the resistance of soils to erosion.

Keywords: *soil, water flow, erosion, thermodynamic potential method*.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

АННОТАЦИЯ

Решение задач при проектировании противоэрозионных технологий и технических средств связано с отысканием интегрального объективного параметра, который удовлетворял бы требованиям практики и разработкой приемлемого способа его определения. Поэтому цель исследования - разработка интегрального критерия оценки эрозионной стойкости почвогрунтов. В качестве величины, характеризующей эрозионную стойкость почв, предлагается использовать энергию ΔA, затраченную на разрушение и вынос единицы массы Δm почвы в конкретных условиях ее залегания. В такой постановке вопрос о взаимодействии водного потока с почвогрунтом будет сводиться к определению или к измерению величин ΔA и Δm. Следовательно, разработка теоретических предпосылок решаемой проблемы и экспериментальное определение величин ΔA и Δm, могут выявить основные закономерности в физическом механизме эрозионных процессов. Для описания эрозионных процессов предложено использовать метод термодинамических потенциалов. Показано, что термодинамический потенциал Гиббса наиболее подходит для этих целей, поскольку можно разработать устройства для экспериментального измерения независимых переменных. Потенциал эрозионной стойкости представляет собойвеличину аддитивную и постоянную для конкретного почвогрунта и выражает его свойства, т.е. может быть принят в качестве единого интегрального критерия оценки эрозионной стойкости почв.

Ключевыеслова*: почва, водныйпоток, эрозия, методтермодинамическихпотенциалов*.

INTRODUCTION

Methods for predicting soil losses due to erosion have been developed for many years and considered as a consequence of erosion processes [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7] Early calculation models of soil losses were mainly of a qualitative nature, demonstrating the different effectiveness of specific agronomic methods of erosion control [2, 3, 4, 5.7, 23, 24, 25, 26, 27]. Initially, to describe soil loss were obtained equations with a single independent variable. Such single-factor equations were used for particular situations with practical invariance of the remaining factors. As a result of the accumulation of more extensive experimental materials and further knowledge of the mechanism of erosion processes, multi-factor equations [8,9,10,11] were obtained. A fairly large number of computational models of sheet wash erosion are presently known; the detailed information on this issue can be found in the monographs [23], [45], etc. All existing calculation methods can be conditionally divided into empirical [11, 22, 23, 27, 28, 29, 30, 31, etc.], hydromechanical [8, 9, 10, 11, 32, 33], and logical-mathematical (immitational) modelling [34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42].

Summarizing the above brief overview of methods for calculating and predicting erosion processes, it can be noted that empirical erosion models for solving prediction problems are applicable only for specific catchment and drainage areas and can not be interpreted for other soil-climatic conditions. Application of hydromechanical and logical-mathematical models for the same purposes is predetermined by their sensitivity to erosion properties of soil, such as K factor of soil erosion susceptibility, which is determined experimentally; non-eroding flow velocity υne or permissible bottom velocity VΔ per; soil aggregate stability used in all foreign simulation models.

Research objective. Development of an integral criterion to assess the resistance of soil to erosion.

MATERIALS AND METHODS

The soil is a natural body formed by the accumulation of organic and inorganic material on the Earth's surface as a result of the mass and energy exchange (physical, chemical, biological, mechanical, etc.) processes, being an object of thermodynamics. Processes of soil formation, erosion, accumulation of sediments, dehumidification, biomass harvesting, etc., showing receipt or loss of material or energy indicate that soil can be considered as an open thermodynamic system.

The above processes proceed at a finite rate, changes in the state of a system are unbalanced and non-static. Therefore, these processes should be described by methods of non-linear non-equilibrium thermodynamics [43]. However, the considered soil medium, is self-regulating, being an agroecosystem, and like any other biological object, it aims to:

- maintain a dynamic equilibrium or a stable state

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

in which the rate of material and energy inputs is equal to the rate of their loss, and accumulated energy and matter remain relatively constant;
- seeks to achieve a new dynamic equilibrium, when the rate of material and energy inputs or losses of the system vary; accumulation of energy and matter increases along with an increase in the rate of the energy and material flow of the system; the higher the accumulation (loss) capacity within the system at a given input, the lower (higher) the sensitivity of the system.

Such processes in thermodynamics are usually called equilibrium and quasi-static [44]. Therefore, very tentatively, it is possible to describe erosion processes using classical laws of equilibrium thermodynamics.

To research highly complex and multi-factorial erosion processes, it is proposed to use the thermodynamic potential method. The essence of this method is described below. Using the basic equation of thermodynamics for the system under consideration, some state functions are introduced – thermodynamic potentials. An increase/decrease of thermodynamic potentials seen while changing the state of the considered system is a total differential, which makes it possible to compose corresponding (thermal, caloric) equations for the process in question. Solution and analysis of the results is the most correct research approach in the context of physics, since the method of thermodynamic potentials derives from more general ideas about the object and, what is more important, this method makes it possible to experimentally measure a number of parameters included in these characteristic functions.

As a quantity characterizing SEP, we [42,45] propose to use the energy input for the destruction and removal of the unit weight of a soil sample.

$$\psi = \frac{\Delta A}{\Delta m}, \qquad \text{(Eq. 1)}$$

where ΔA is the energy to erode and remove the unit weight of soil sample Δm.

In this formulation, the question of water flow and soil interaction will be reduced to calculations or measurements of ΔA and Δm. Consequently, development of theoretical fundamentals for the problem under consideration, as well as the experimental determination of values included in (Eq. 1), can reveal the main regularities in the physical mechanism of erosion processes and establish the most significant links in this mechanism.

In view of such a presentation of the problem, it is necessary to consider the interaction of water flow with thawed soil with and without consideration for infiltration and frozen soil, which take place under different conditions; and to establish a position and relationship of SEP ψ among other thermodynamic potentials. Below are the theoretical fundamentals for the formulated problems.

RESULTS

1) Conditions for the erosion process in thawedsoils without allowance for infiltration

Erosion processes in thawed soils can be considered independently of infiltration if: eroded soil is almost waterproof; the rate of destruction of soil layer by water flow considerably exceeds the velocity of waterfront infiltrated into soil; the rate of destruction of soil layer by water flow is equal to the velocity of the front of water infiltrated into soil.

Assume that $dh_s$are the height of soil eroded by water flow over time dt, and $dh_{w.inf}$ is the velocity of waterfront infiltrated into the soil over the same time, then the rate of destruction of soil layer is dh_s / dt, and the velocity of the waterfront is $dh_{w.inf} / dt$.

Eroded soil is waterproof if $dh_{w.inf} = 0$. Waterproof soils in real conditions are almost not found. For example, the approximate values of the filtration coefficients for clay soils are less than 0.00001 cm/s, for loams – from 0.00001 to 0.0001 cm/s [46]. Therefore, $dh_{w.inf} / dt \geq 0$.

If the erosion rate of the soil layer by water flow is greater or at least equal to the velocity of the waterfront, then

$$\frac{dh_n}{dt} \geq \frac{dh_{uH}}{dt},$$

or

$$dh_n \geq dh_{uH}. \qquad \text{(Eq. 2)}$$

Condition (2) shows that there is no exchange of moisture between the soil and the water flow, that is, a change in the energy potential of a system due to the intake of infiltrated water or salts into the soil can be neglected

$$\sum_{i=1}^{e} \mu_i dn_i \approx 0, \qquad \text{(Eq. 3)}$$

where n_i is the amount of the i-th

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

component, expressed in molar units; dn_i is the chemical potential characterizing an amount of change in the free energy of the soil, caused by a change in the content of the *i*-th component, provided that the rest of the components remain unchanged.

By expressing $dh_s$and $dh_{w.inf}$as elementary volumes$dV_s = dh_s dB\ dl$ and $dV_{w.inf}=dh_{w.inf}dB\ dl$, dry unit weight of soil ρ_s and unit weight of water $\rho_w\ f(h_{w.inf},\ t)$ and the elementary masses

$$dm_s = \rho_s dV_s = \rho_s dh_s dBdl,$$

$$dm_{w.inf} = \rho_s dV_{w.inf} + \rho_w dV_{w.inf} = \rho_w + \rho_s dh_{w.inf}\, dBdl,$$

it isobtained Equation 4:

$$\frac{dm_s}{\rho_s} \geq \frac{dm_{inf}}{\rho_n + f(h_{inf,}t)}, \qquad \text{(Eq. 4)}$$

where $\rho_w=f(h_{w.inf},\ t)$ is the distribution function of water density in the soil layer over a period of infiltration time *t*;dh_s; *dB* and *dl* are the linear dimensions of the elementary volume; $\frac{dm_s}{\rho_s}$ is the elementary volume of soil with an initial volumetric moisture content of θ_0 ; $\frac{dm_{\inf}}{\rho_s + f(h_{\inf,}t)}$ is the elementary volume of soil with a volumetric moisture content of θ_1 due to intake of water absorbed into the soil over a period of time *dt*.

It's obvious that

$$\frac{dm_{inf}}{\rho_s + f(h_{inf,}t)} - \frac{dm_s}{\rho_s} = \Delta V_w \leq 0, \text{(Eq. 5)}$$

is the volume of moisture absorbed over a period of time *dt* to the depth $dh_{w.inf}$, which confirms the validity of (3).

2) The basic thermodynamic equation for eroded thawed soilwithout allowance for infiltration

Interaction of water flow with thawed soil, without allowance for infiltration, is accompanied by a whole complex of interrelated processes, in accordance with (4) or (5). Assume that all the parameters of these processes vary infinitely slowly and the erosion process has stabilized, i.e. a quasi-static process is being realized. Therefore, the basic equation of thermodynamics for the process under consideration can be written in the following form:

$$TdS = dU + \sum_{i=1}^{n} B_i db_i\,, \qquad \text{(Eq. 6)}$$

where *T* is temperature;*dS* is the function determined by the differential equation;*S* is the entropy; *dU* is the amount of change in the internal energy of the system, determined by the initial and final state of the system and representing the total differential; B_i is the generalized force that is, at equilibrium, a function of the external parameters b_i and temperature *T* (for non-static processes, the generalized force B_i is a function not only of external b_i and internal a_i parameters, but also of the derivatives db_i/dt and da_i/dt).

Below we present the use of the method of thermodynamic potentials. It should be noted that the method of thermodynamic potentials or the method of characteristic functions was developed by Gibbs. This analytical method is based on the use of the basic equation of thermodynamics for quasi-static processes. If the state of a system "eroded thawed soil – water flow" is determined by some generalized coordinates b_i and the entropy of the system *S*, then its thermodynamic potential is the internal energy $U\ (S,\ b_i)$.

$$dU = TdS - \sum_{i=1}^{n} B_i db_i\,, \qquad \text{(Eq. 7)}$$

The state of a system, determined by the external parameters b_i and temperature *T*, is characterized by the thermodynamic potential – the Helmholtz free energy $F(b_i,\ T)$

$$F = U - TS. \qquad \text{(Eq. 8)}$$

Having differentiated (8) and bearing in mind (6), we can write the following equation:

$$dF = -SdT - \sum_{i=1}^{n} B_i db_i\,, \qquad \text{(Eq. 9)}$$

At *T=const,* expression (9) can be written as:

$$dF = -\sum_{i=1}^{n} B_i db_i\,, \qquad \text{(Eq. 10)}$$

If the state of a system is determined

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

by the temperature T and the generalized forces B_i, which are conjugate of the external parameters b_i, then the thermodynamic potential of the system is the Gibbs free energy $G(T,B_i)$:

$$G = U - TS + pV, \qquad \text{(Eq. 11)}$$

where p is the hydrostatic pressure; V is the volume of a system.

Having differentiated (11), we obtain the following equation:

$$dG = dU - SdT - TdS + pdV + Vdp. \qquad \text{(Eq. 12)}$$

Taking into account (6), the resulting expression (12) can be written as:

$$dG = pdV + Vdp - SdT - \sum_{i=1}^{n} b_i dB_i. \qquad \text{(Eq. 13)}$$

Assume that the work δA_1, produced by a water flow in an eroded soil is to shift its boundaries and overcome some uniformly distributed hydrostatic pressure p. Notice also that p is not necessarily equal to the pressure in the system. However, this equality of pressures occurs if the eroded soil is in a quasi-static equilibrium with the water flow. If dV is an infinitesimally small amount of change in the volume of the system, then we define it as:

$$\delta A_1 = b_1 dB_1 \equiv pdV, \qquad \text{(Eq. 14)}$$

independently of the shape or internal structure of the system. On the basis of (14), equation (13) takes the following form:

$$dG = Vdp - SdT - \sum_{i=2}^{n} b_i dB_i. \qquad \text{(Eq. 15)}$$

If the requirements $p=const$ and $T=const$ for the thawed soil are met, the Equation 15 is rewritten as follows:

$$dG = -\sum_{i=2}^{n} b_i dB_i. \qquad \text{(Eq. 16)}$$

If the system's independent parameters are the entropy Snd the generalized forces B_i , then the thermodynamic potential is the enthalpy $H(S, B_i)$

$$H = U + pV, \qquad \text{(Eq. 17)}$$

the differential for which can be written as:

$$dH = dU + pdV + Vdp. \qquad \text{(Eq. 18)}$$

Based on (7), (14), and provided that $p=const$, the latter can be written as:

$$dH = TdS - \sum_{i=2}^{n} b_i dB_i. \qquad \text{(Eq. 19)}$$

Presented below is an analysis of the values of the obtained equations (7), (10), (16), (19) in the context of the possibility of their experimental measurement. Formula (7) is inconvenient from a practical point of view because one of its independent variables – Scannot be measured directly, like and V, p, and T. A similar conclusion can be made for equation (19). It is necessary to measure the external parameters b_i for equation (10) since in this case, the generalized force B_i is not only a function of b_i and T, but also of the internal parameters a_i, and their time derivatives.

In view of the foregoing, we consider that it possible to use equation (16) to describe erosion processes in thawed soils, since in this case, the work of external forces $\sum_{i=2}^{n} b_i\, dB$ is equal to an amount of the free energy change in the system. The negative sign before the equation (16) denotes the fact that an increase in the free energy of the system is associated with energy input. The point of the independent variables of $\sum_{i=2}^{n} b_i\, dB$ is that they present elementary works performed by the system against forces of different nature, for example gravity force $\delta A_2 = b_2\, dB_2$, surface tension forces at phase boundaries $\delta A_3 = b_3 dB_3$, osmotic forces $\delta A_4 = b_4 dB_4$, magnetic forces $\delta A_5 = b_5\, dB_5$, electric forces $\delta A_6 = b_6 dB_6$, etc.

3) SEP of thawed soils without allowance for infiltration

In an equilibrium system, with a stabilized erosion process, pressure and temperature of the system are constant, and

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

according to equations (15) and (16), the free energy *dG* is minimal and constant throughout the system's volume. Thus it follows that the constancy *G* is a necessary and sufficient condition for thermodynamic equilibrium in the isothermal system and, consequently, this equilibrium can be ensured by various combinations of $b_i dB_i$, defining *G*. After integrating equation (16)

$$\Delta G = -\Delta A, \qquad \text{(Eq. 20)}$$

where ΔA is the integral energy expended to erode thawed soil, without allowance for infiltration.

Then, based on (1), SEP of thawed soil, without allowance for infiltration can be formulated as:

$$\psi_{twd} = \frac{\Delta G}{\Delta m} = -\frac{\Delta A}{\Delta m}. \qquad \text{(Eq. 21)}$$

The obtained expression (21) shows that SEPψ_{twd} is a constant value for a particular soil and expresses its properties. This statement is valid because,in equilibrium thermodynamics, stable states are recognized at least by a local minimum of free energy and at least by a local maximum of entropy due to the law of decrease of free energy and increase of entropy.

Suppose that the considered erosion process proceeds in an open thermodynamic system, which receives non-zero flows of arbitrary signs from an external medium, i.e. free energy does not necessarily has a minimum, and entropy – a maximum. Then, the generalized force is expressed as:

$$B_i = f\left(\frac{db_i}{dt}, \frac{da}{dt}\right);$$

$$\frac{db_i}{dt} \geq \frac{\Delta b_i}{\tau}, \frac{da_i}{dt} \geq \frac{\Delta a_i}{\tau},$$

where Δb_i ,Δa_i are the amounts of change in b_i and a_i, when the system is taken out of equilibrium state; $\tau$is the relaxation time, i.e. the time interval during which the system returns to a state of equilibrium.

Other functions are necessary to distinguish stable non-equilibrium stationary states from other states. There are several criteria [43,47], sufficient for solving the problem of the stability of a non-equilibrium stationary state. One of them is based on the analysis of stability by linear approximation, the other on the concept of the Lyapunov function. In addition, if an erosion process is linear or relatively weak non-linear in the context of thermodynamics, then for calculating statistical fluctuation characteristics of internal parameters, as well as for calculating flow parameters, it is possible to apply methods [44] based on Markov or non-Markovian fluctuation-dissipation relations. Without dwelling on the advantages of this or that stability criterion and methods for calculating statistical characteristics of fluctuations and flows, since they are the subject of separate studies, it is possible to formally propose the second derivative of the potential ψ_{twd}, as a function characterizing the stability of the erosive non-equilibrium process.

$$\frac{d^2\psi_{twd}}{dt^2} \leq 0. \qquad \text{(Eq. 22)}$$

4) SEP of thawed soilswith allowance for infiltration

When solving problems associated with erosion processes, it is necessary to differentiate the total amount of water mass interacting with soil, surface run-off and infiltration flow [12,13,14,15,16,17,18,19,20]. Usually, the works focused on calculating soil wash-off over a certain period of time distinguish the surface run-off as the main factor and do not take into account the soaking effects, or treat it as a certain averaged value, neglecting its spatial variability. While averaging absorption as a factor, the parameters influencing it are also averaged: hydraulic conductivity, diffusivity, sorptivity, etc. This significantly influencesthe results of calculations in solving the main task of erosion processes and leads to significant differences between the results of field experiments and calculated values.

5) Conditions for the erosion process in thawed soil with allowance for infiltration

Soil erosion with regard to infiltration is possible when the velocity of waterfront infiltrated into the soil is higher than the rate of destruction of the soil layer by water flow. If $dh_s$is the layer of soil eroded water flow over a time period*dt*, and $dh_{w.inf}$ is the depth of waterfront infiltrated into the soil over the same time, then

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

$$\frac{dh_{inf}}{dt} \geq \frac{dh_s}{dt},$$

and equation (4) can be written as:

$$\frac{dm_{inf}}{\rho_s + f(h_{inf,}t)} \geq \frac{dm_s}{\rho_s}. \qquad \text{(Eq. 23)}$$

Then, equation (5) can be written as:

$$\frac{dm_{inf}}{\rho_s + f(h_{inf,}t)} - \frac{dm_s}{\rho_s} = \Delta V_w \geq 0, \text{(Eq. 24)}$$

where ΔV_w is the volume of moisture absorbed over a time period dt to a depth $dh_{w.inf}$.

Volume ΔV_w can be expressed in terms of sorptivity, a function proposed by Philip [48], which is the volume of moisture ΔV_w, absorbed per unit area A within the first-second t

$$C = \frac{\Delta V_w}{A\sqrt{t}} = \left[(\theta_1 - \theta_0)\frac{F_1}{b_1}\right]^{1/2}, \text{(Eq. 25)}$$

where θ_0 is the volumetric soil moisture, m^3/m^3; θ_1 is the steady soil moisture content after passing through the wetting front at the flow potential F_1.

According to Philip [48], b_1 = 0,5; according to Reynolds and Elric [49], for most soils b_1 = 0,55.

By expressing ΔV_w using (25), and by substituting it in (24), we obtain the following equation:

$$f(h_{inf},t) = \rho_s\left(\frac{dm_{inf}}{dm_s + \rho_s CA\sqrt{t}} - 1\right). \text{(Eq. 26)}$$

Thus, the obtained conditions (24) and (26) show that soil exchanges mass with water flow, that is, the system's energy changes, due to a change in the concentration or composition of its components, due to infiltration of water or salts by an amount

$$\sum_{i=1}^{e} \mu_i dn_i > 0, \qquad \text{(Eq. 27)}$$

where $\mu_i = \left(\frac{\partial u}{\partial n_1}\right)_{S,b_i}$ is the chemical potential of the i-th component.

6) The basic thermodynamic equation of the erodible thawed soil,with allowance for infiltration

The difference between erosion processes with and without allowance for filtration characteristics of soils is that the former are accompanied by a change in the energy of a system by an additive quantity determined by expression (27). As applied to a quasi-static process, the basic equation of thermodynamics for systems with variable mass can be written as

$$TdS = dU + \sum_{i=1}^{n} B_i db_i - \sum_{i=1}^{e} \mu_i dn_i. \qquad \text{(Eq. 28)}$$

Considering the fact that the most commonly used characteristic functions are the thermodynamic potentials U, F, G, and H, then, on the basis of (28), we can obtain:

$$dU = TdS - \sum_{i=1}^{n} B_i db_i + \sum_{i=1}^{e} \mu_i dn_i, \text{(Eq. 29)}$$

$$dF = -\sum_{i=1}^{n} B_i db_i + \sum_{i=1}^{e} \mu_i dn_i, \text{(Eq. 30)}$$

$$dG = -\sum_{i=1}^{n} b_i dB_i + \sum_{i=1}^{e} \mu_i dn_i, \qquad \text{(31)}$$

$$dH = TdS - \sum_{i=1}^{n} b_i dB_i + \sum_{i=1}^{e} \mu_i dn_i, \text{(Eq. 32)}$$

where

$$\mu_i = \left(\frac{\partial u}{\partial n_1}\right)_{S,V} = \left(\frac{\partial u}{\partial n_1}\right)_{T,V} = \left(\frac{\partial u}{\partial n_1}\right)_{T,P} = \left(\frac{\partial u}{\partial n_1}\right)_{S,p}$$

is the chemical potential of the i-th component.

An analysis of equations (29), (30), (31), and (32) in the context of possible experimental measurement of their independent variables leads to the conclusions obtained above.

Therefore, to describe erosion processes, taking into account the filtering properties of soils, it is possible to apply equation (31), since in this case the work of external forces

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

$\sum_{i=2}^{n} b_i\, dB_i$ and the change in the energy of a system due to a change in the concentration or composition of its components in mass-exchange process $\sum_{i=1}^{e} \mu_i dn_i$ are equal to an amount of change in the free energy of the system. The "-" sign before the first sum denotes the fact that an increase in the free energy of the eroded system is associated with energy inputs. The "+" sign before the second sum shows that infiltration reduces soil erosion.

The independent variables $b_i\ dB_i$ included in (31) denote the same as those in (16), that is, they represent the elementary works performed by the system against forces of different nature. The independent variables in $\sum_{i=1}^{e} \mu_i dn_i$ denote the relative changes in the work $\delta A_1 = \mu_i dn_i$, $\delta A_2 = \mu_2 dn_2, \delta A_3 = \mu_3 dn_3, \ldots$, done by the system against the same forces of a different nature in connection with the occurred mass-exchange processes during infiltration. It should also be noted that many variables in (31) necessarily change when other variables change. In addition, in a number of specific cases, small changes in such variables as the temperature *T*, the content of free substances dissolved in water, and others can be neglected, which may lead to further simplifications of expression (31) for *dG*.

7) SEPwith allowance for infiltration

In an equilibrium system, with a stabilized erosion process, and the system's pressure and temperature are constant, and according to equations (31), the free energy *dG* is minimal and constant throughout the system's volume. Consequently, the constancy *G*, which is a necessary and sufficient condition for thermodynamic equilibrium in an isothermal system, can be provided by a different combination of the quantities $b_i dB_i, \mu_i dn_i$, defining *G*.

After integrating equation (31)

$$\Delta G = -\Delta A = -\Delta A_1 + \Delta A_2\ , \qquad (31)$$

where ΔA_1 is the integral energy expended to erode soil with allowance for infiltration; ΔA_2 is the integral energy expended in energy-mass exchange processes due to absorption of water into the soil.

Such a separation of ΔA into components ΔA_1 and ΔA_2 s rather conditional, but there is fundamental importance: it is possible to develop a device for experimental determination of both ΔA_1, and ΔA_2 and thereby assess the contribution of these components to the erosion process.

By dividing the resulting equation by Δm, we obtain

$$-\frac{\Delta A}{\Delta m} = -\frac{\Delta A_1}{\Delta m} + \frac{\Delta A_2}{\Delta m}, \qquad (32)$$

which, bearing in mind (1), can be written as:

$$\psi_{twd} = \psi_{twd.inf} - \psi_{inf}\ , \quad \text{(Eq. 33)}$$

where $\psi_{twd.inf}$ is the SEP with allowance for infiltration; ψ_{inf} is infiltration potential with allowance for the influence of energy-mass exchange processes due to infiltration of water into the soil.

It follows that

$$\psi_{twd.inf} = \psi_{twd} + \psi_{inf}\ , \quad \text{(Eq. 34)}$$

that is, the actual SEP ψ_{twd} is a value that is additive and constant for a particular soil and expresses its properties. Naturally, spatial variability of ψ_{inf} also affects the value $\psi_{twd.inf}$, nevertheless, the constancy of ψ_{twd} for a particular soil is preserved.

To evaluate the stability of erosive non-equilibrium processes with allowance for infiltration, by analogy with (22), one can propose the following function:

$$\frac{d^2\psi_{twd}}{dt^2} = \frac{d^2\psi_{twd.inf}}{dt^2} - \frac{d^2\psi_{inf}}{dt^2} \le 0. \quad \text{(Eq. 35)}$$

8) SEP for frozen and thawing soils

Preliminary remarks

The process of soil erosion that occurs in the spring period is the result of a complex interaction of the system "atmosphere – the underlying terrain". Below are the processes resulting from the exchange processes: soil freezing, accumulation of precipitation, melting of snow, thawing of soil, infiltration of meltwater into the soil, the formation of overland run-off, and soil erosion. The listed processes are studied in depth and presented in [21, 50, 51]. However, the issues of freezing and thawing of

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

soil, migration of soil moisture to the freezing front, are currently the subject of scientific discussions. We shall dwell on these issues in more detail since their formulation close to the problem of interaction of slope run-off of meltwater with frozen and thawing soil. It should be noted that the following brief review cannot claim to cover the entire volume of literature related to this thermo- and mass-exchange processes.

Apparently, the migration of water in the freezing soil was for the first time noted by V.I. Stuckenberg [52] while studying the frost-heaving phenomenon. He suggested that this effect arises from a change in capillarity due to the appearance of cracks during freezing and increase of water volume during its transition to ice.

Later this approach found both its followers and opponents. Thoroughly set up experiments by A. Jumikis [53], showed that the capillary meniscus disappears quickly enough upon contact ice and water, and therefore, the capillary forces can not cause migration of soil moisture to the freezing front.

M.N. Goldstein [54] suggested that the migration of soil moisture is mainly due to osmotic forces arising as a result of the difference in pressures between frozen water in hydrate shells and unfrozen water from the thawed horizons, where the concentration of the solution is lower. However, subsequent studies [55, 56] have shown that the effect of osmotic forces on the migration process is insignificant.

According to N.A. Puzakov [57], the main role in the migration of soil moisture belongs to the mineral composition of clay components and the presence of exchangeable cations. Their influence is significant when the content of clay particles has an insignificant effect on water permeability of soils.

The migration phenomena have been considered in the paper [58] in terms of crystal chemical concepts and it is believed that the migration of moisture occurs as a result of a decrease in the free energy of the system or its isobaric potential. Moreover, with increasing concentration of soluble salts, the coagulation process and aggregation of the finely dispersed material is observed.

As early as 1936, A.F. Lebedev [59] came to the conclusion that the migration of soil moisture is a result of the interaction of film water adsorbed on the surface of solid particles and brought into motion due to the action of growing ice crystals. The film mechanism of mass transfer has been further developed in [60, 61, 62], according to which, as the temperature falls, free and slightly distorted water turns into the ice first. In this case, the thickness of water films decreases and the process of pumping from thick films to thin films occurs, and the adsorption forces on the ice surface bringing water molecules from thin films into motion with subsequent crystallization.

In the work [63], the diffusion theory was used to describe the movement of moisture in freezing soil. However, experiments have shown that the satisfactory correlation between calculations and observations was achieved only after decreasing the diffusivity by an order of magnitude. According to V.E. Goryaev [64], the transfer of soil moisture in the winter period is a thermodiffusion process.

Thus, the complexity of the processes in freezing soils and the lack of unified approaches to the migration of soil moisture do not allow to create a unified calculation scheme for a quantitative accounting of the forces acting at the same time, and for the quantitative assessment of migrating moisture. The application of systems of heat and mass transfer equations and their modifications for these purposes [65, 66] was unsuccessful since an analytical solution of the mentioned systems of equations required a number of simplifying hypotheses or special experiments for determining newly introduced coefficients.

Therefore, in our opinion, the experimentally established fact [52] of fundamental significance is that the driving force of moisture migration in freezing soil is the gradient of the thermodynamic potential μ_ω of soil moisture, arising from the difference in specific energies in thawed and frozen soil. Detailed experimental studies have revealed that at the initial moment of cooling of soil, there is practically no change in μ_ω. With appearance of intensive phase transitions of water and formation of frozen zone, the binding energy of water remaining in the unfrozen state increases and, consequently, the potential μ_ω begins to increase in absolute value and reach a maximum, and then decreases again due to a decrease in the temperature gradient in the frozen zone by the time of establishment of thermal equilibrium of

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

soil with the external environment. That is, the potential of soil moisture is based on the concept of chemical potential *($\mu \equiv \mu_\omega$),* representing in physical context the work to be done to isothermally and reversibly move the unit mass of pure water from the volume to a given point of soil. It is obvious that the potential μ_ω consists of individual potentials, each of which is associated with the action of specific forces, for example, capillary, adsorption, osmotic, gravitational, electric, etc. Then, the above approaches to the study of migration phenomena in disperse environments are quite understandable and, what is especially important, the structural and texture changes that occur during thawing and cyclically recurring freezing-thawing processes in soil observed in the spring periods on fields during the snowmelt, are explainable.

Indeed, many works [58, 60, 67, etc.] have shown that the freezing of dispersing environments is accompanied by ice formation, an increase in the concentration of dissolved substances in the pore space, partial aggregation of the mineral skeleton, partial fragmentation and reorientation of micro- and macroaggregates (as a result of which particles of dust fraction aggregate to the size of 0.1 ... 0.5 mm, while the large aggregates are partially crushed to smaller fractions).

Two variants of thawing are considered in [60]: without and with the migration of moisture from the thawing to the frozen part of the soil. Thawing without migration occurs with the rapid advance of the thawing front and at low humidity, i.e. ice content, and thawing with migration is observed most often with the slow thawing of sufficiently moist (icy) rocks. Almost the same physicochemical processes develop in both types of thawing: increase in the dispersity of thawing rocks as a result of dispersion and peptization of soil aggregates and blocks, as well as crushing of primary particles. The difference is that in the frozen part of thawing rocks with a massive cryogenic texture, due to *grad* μ_ω, there is a movement of unfrozen water in the direction of thawing front into frozen water. As moisture enters the region of lower negative temperatures, it partly freezes due to disturbance of the equilibrium between unfrozen water and ice. As a result, there is an increase in ice content, which is almost always observed in the spring in the catchment areas during the snowmelt.

It is noted in [68] that the freeze-thaw cycles lead to the dispersion of the mineral part and the coalescence of structural soil elements. The enlargement of structural elements occurs due to coagulation and aggregation during the phase transition of the pore solution to ice, where the authors observed a noticeable coarsening after the first freeze-thaw cycle.

Yu.V. Gurikov and colleagues [69] established that the processes of seasonal freezing-thawing of soils lead to mobilization of water-soluble calcium in A horizon.

Thus, considering that the soil is a multiphase multicomponent system, the elements of which, despite the different location conditions, are always united by a structural and functional relation, and are in a state of dynamic equilibrium with the environment, then to describe the interaction of the slope run-off of thawed water with frozen and thawing soil, we consider it possible in the first approximation to apply the laws of thermodynamics, and in particular, its third law.

10) Conditions of the erosion process for frozen and thawing soils

Our laboratory-based reconnaissance experiments on thawing soils, using the specially developed device [70], as well as a number of studies [71, 72, 73, 74] have shown that the process of snowmelt passes through a series of phases that do not have clear time boundaries:

- melting and heating of snow within a temperature range from $T < 0$°C to $T = 0$°C;
- wetting to saturation and partial infiltration through snow;
- filtration through the entire thickness of snow cover;
- continuous longitudinal filtration of water through the snowalong the slope;
- formation of a sub-snow rill network;
- formation of an open rill network;
- formation of thawed patches and run-offs along the soil surface.

Thus, with continuous longitudinal infiltration of water into snow and the formation of a sub-snow rill network, the temperature of the surface layer of soil varies from $T < 0$°C to $T = 0$°C and the water flow interacts predominantly with the frozen soil. The formation of thawed patches leads to the interaction of the water stream mainly with the thawing soil.

Assume that dh_s is the layer of soil that is eroded by water flow over a period of time dt, and dh_{twg} is the thaw depth progression over the same time, then

$$\frac{dh_{inf}}{dt} \geq \frac{dh_s}{dt}, \qquad \text{(Eq. 36)}$$

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

By expressing $dh_s$and dh_{twg} through elementary volumesdV_s and dV_{twg},the density of soil skeleton ρ_s,the density of thawed soilρ_{twd} , the density of the migratory moisture $\rho_{mig} = f(h_{mig}, t, grad\ T_s)$ and the elementary masses dm_s and dm_{twg}, the following formula can be obtained:

$$\frac{dm_{twd}}{\rho_{twd} - f(h_{mig}t, gradT_s)} \geq \frac{dm_s}{\rho_s}, \text{(Eq. 37)}$$

where $\rho_{mig} = f(h_{mig}, t, grad\ T_s)$ is the distribution function of the density of the migratory moisture from the thawed zone to the frozen soil layer h_{mig} over a time period$t$ and with a temperature gradient$grad\ T_s$.

With some approximation, we can assume that $\rho_s \approx \rho_{twg}$, since the thawed soil receives water formed during the snowmelt. Therefore,

$$\frac{dm_{twd}}{\rho_s - f(h_{mig}t, gradT_s)} \geq \frac{dm_s}{\rho_s}, \text{(Eq. 38)}$$

The obtained conditions (37) and (38) show that the thawed soil exchanges mass both with the water flow and with the frozen soil, that is, the amount of the system's energy changes due to a change in the concentration or composition of its components, due to migration of moisture from the thawed layer to the frozen and of infiltrated meltwater or salts by an amount

$$\sum_{i=1}^{e} \mu_{inf\ i} dn_{inf\ i} + \sum_{i=1}^{e} \mu_{mmi} dn_{mmi}, \text{ (Eq. 39)}$$

where $n_{mm.i}$is the amount of the i-th component in the migration of moisture from the thawed zone to the frozen layer, expressed by the number of moles; $n_{inf.i}$ is the amount of the i-th component in the infiltration of thawed water into thawed soil, expressed by the number of moles; $\mu_{inf.i}$ is the value characterizing the change in the free energy of soil during infiltration, caused by a change in the content of a given$i$-th component, at constant valuesof the remaining independent components; $\mu_{mm.i}$is the value characterizing the change in the free energy of soil during the migration of moisture from the thawed zone to the frozen layer, caused by a change in the content of the i-th component, at constant values of the remaining independent ones.

Assume that $dh_{fs}$is the layer of frozen soil eroded by water flow over a time period dt, and dh_{twg} is the thaw depth of soil over the same period of time, while $dh_{fs} > dh_{twg}$, that is, the slope run-off of thawed water interacts with frozen soil. Then,

$$\frac{dh_{fs}}{dt} \geq \frac{dh_{twg}}{dt}, \text{ (Eq. 40)}$$

$$\frac{dm_{fs}}{\rho_{fs} + f(h_{mig}, t, gradT_s)} \geq \frac{dm_{twg}}{\rho_{twg} - f(h_{mig}, t, gradT_s)}. \text{ (Eq. 41)}$$

If, with some approximation, it is assumed that $\rho_{fs} \approx \rho_{twg}$, while$dm_{fs}$ and dm_{twg} differ insignificantly, then inequality (41) changes its sign. Consequently, erosion of frozen soil with water flow is possible only if it is thawed, i.e. $dh_{fs} = dh_{twg}$.

The critical value dm^*_{fs} can be established after determining the function $\rho_{w.mig} = f(h_{mig}, t, grad\ T_s)$, then

$$\frac{dm^*_{fs}}{\rho_{fs} + f(h_{mig}, t, gradT_s)} \equiv \frac{dm_{fs}}{\rho_{twg} - f(h_{mig}, t, gradT_s)}. \text{ (Eq.42)}$$

Condition (41) is obviously satisfied when $dm_{fs} > dm_{twg}$, that is, in the interaction of frozen soil with a water flow of a sufficient power (rupture of soil and soil aggregates, hydraulic fracturing, destruction by injection, etc.). It also follows from (41) that the frozen soil exchanges mass with the water flow, that is, a change in the energy of a system occurs due to a change in the concentration or composition of its components due to moisture migration from the flow to the frozen layer by an amount

$$\sum_{i=1}^{e} \mu'_{mmi} dn'_{mmi}, \text{ (Eq. 43)}$$

where $n'_{mm.i}$ is the amount of i-th component in the migration of moisture to the frozen layer, $\mu'_{mm.i}$ is the chemical potential of the migrating moisture.

11) The basic thermodynamic equation for eroded frozen andthawing soil

Interaction of water flow with frozen and thawing soil is accompanied by a whole complex of interconnected heat and mass exchange, physicochemical and physicomechanical processes. Considering that all the parameters of the interrelated heat and mass exchange, physicochemical and physicomechanical processes vary infinitely slowly and the erosion process has stabilized, i.e. a quasi-static process is carried out, the basic equation of thermodynamics for a system with variable mass can be written as:

$$TdS = dU + \sum_{i=1}^{n} B_i db_i - \sum_{i=1}^{e} \mu_{\inf\ i} dn_{\inf\ i} - \sum_{i=1}^{e} \mu_{mmi} dn_{mmi}, \text{ (Eq. 44)}$$

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

when the water stream predominantly interacts with the thawed soil and conditions (37) or (38) and equality (42) are satisfied, and the change in the energy of a system occurs by an additive quantity (39);

$$TdS = dU + \sum_{\mathbf{i=1}}^{\mathbf{n}} B_i db_i - \sum_{\mathbf{i=1}}^{e} \mu'_{mmi} dn'_{mmi} ,$$

(Eq. 45)

when the water flow predominantly interacts with the frozen ground and condition (41) is satisfied, while the energy of a system is changing by the value (43).

Analogously to the above, based on (44) and (45) for the Gibbs free energy $G(T, B_i , n_i)$ in a differential form, can be obtained the following equations:

$$dG = -SdT + pdV + Vdp - \sum_{\mathbf{i=1}}^{\mathbf{n}} b_i dB_i + \sum_{\mathbf{i=1}}^{e} \mu_{\inf i} dn_{\inf i} + \sum_{\mathbf{i=1}}^{e} \mu_{mmi} dn_{mmi} ,$$

(Eq. 46)

$$dG = -SdT + pdV + Vdp - \sum_{\mathbf{i=1}}^{\mathbf{n}} b_i dB_i + \sum_{\mathbf{i=1}}^{e} \mu'_{mmi} dn'_{mmi}$$

. (Eq. 47)

For $\delta A_1 = b_1 dB_1 = pdV$, *p=const*, equations (46) and (47) can be written as:

$$dG = -SdT - \sum_{\mathbf{i=2}}^{\mathbf{n}} b_i dB_i + \sum_{\mathbf{i=1}}^{e} \mu_{\inf i} dn_{\inf i} + \sum_{\mathbf{i=1}}^{e} \mu_{mmi} dn_{mmi}$$

, (Eq. 48)

$$dG = -SdT - \sum_{\mathbf{i=2}}^{\mathbf{n}} b_i dB_i + \sum_{\mathbf{i=1}}^{e} \mu'_{mmi} dn'_{mmi}$$

, (Eq. 49)

We consider possible to apply equations (48) and (49) to describe erosion processes in frozen and thawing soil, since in this case the work of external forces $\sum_{\mathbf{i=2}}^{\mathbf{n}} b_i dB_i$, the change in the energy of a system due to a change in the concentration or composition of its components in mass-exchange processes $\sum_{\mathbf{i=1}}^{e} \mu_{\inf i} dn_{\inf i}$, $\sum_{\mathbf{i=1}}^{e} \mu_{mmi} dn_{mmi}$, $\sum_{\mathbf{i=1}}^{e} \mu'_{mmi} dn'_{mmi}$ and the accompanying thermo-physicochemical processes is equal to the change in the free energy of a system.

The sign "-" before the first term and the first sum of equations (48) and (49) reflects the fact that an increase in the free energy of an eroded system is associated with thermo-physicochemical processes and energy inputs. The sign "+" before the second and third sums of equation (48), and also before the second sum of equation (49) shows that mass exchange between frozen and thawed soil and water flow leads to a decrease in the free energy, that is, to decreasing erosion processes.

The meaning of the independent variables $\sum_{\mathbf{i=2}}^{\mathbf{n}} b_i dB_i$ is that they are elementary works performed by the system against forces of a different nature. The independent variables in $\sum_{\mathbf{i=1}}^{e} \mu_{\inf i} dn_{\inf i}$, $\sum_{\mathbf{i=1}}^{e} \mu_{mmi} dn_{mmi}$ and $\sum_{\mathbf{i=1}}^{e} \mu'_{mmi} dn'_{mmi}$ reflect the relative changes in the work, $\delta A_2 = \mu_{\inf 2} dn_{\inf 2}$,..., performed by a system against the same forces of different nature in the context of the occurred mass exchange processes (migration of soil moisture to the freezing front).

The component *S dT* takes into account the total change in the energy of a system as a result of the transition $\delta A_1 \rightarrow \delta A_1'$, $\delta A_2 \rightarrow \delta A_2$ (,$\delta A_3 \rightarrow \delta A_3'$,..., and the accompanying thermo-physico-chemical processes. For example, during freezing and thawing of soils, hydration, peptization and other processes are observed. Thus, during hydration, ions, molecules of the dissolved substance and colloidal particles are combined with water molecules. The study of hydration of ions by various methods (in terms of electrical conductivity, osmotic properties, spectroscopic method, ion mobility) has shown that a large amount of energy is released during hydration, which is the basic energy necessary for the separation of ions bound in a crystal lattice upon its dissolution. Peptization or colloidal dissolution is the process of transition of a gel to a sol, which is associated with the formation of double electrical layers. As shown by numerous studies, the charging of gel particles can occur either due to the adsorption of ions into the inner coating of the double layer or by the increased diffusion of the outer layer of the double layer. These examples are given only to show that these or those transition processes are accompanied by various chemical reactions, physical phenomena, etc., that is, there are thermo-physicochemical

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

processes leading to a total change in the thermodynamic system by an amount of *S dT*.

It should also be noted that many variables in (48) and (49) necessarily change when other variables change. In addition, in a number of practical cases, small changes in such variables as the osmotic and the capillary pressure in frozen soil, the content of free substances dissolved in water, etc., can be neglected, which can lead to further simplifications of equations (48) and (49).

12) SEP for frozen and thawing soils

In an equilibrium system, with stabilized thawing, infiltration, and erosion processes, the temperature of all system's elements is of a finite value, and the free energy *dG* according to equations (48) and (49) is minimal and constant throughout the system's volume. This equilibrium can be ensured by a different combination of the following values: SdT, $b_i dB_i$, $\mu_{\inf i} dn_{\inf i}$, $\mu_{mmi} dn_{mmi}$, $\mu'_{mmi} dn'_{mmi}$. After integrating (48) and (49), we obtain the following expressions:

$$\Delta G = -\Delta A = -\Delta A_f + \Delta A_{thg} = -\Delta A_1 - \Delta A_2 + \Delta A_3 + \Delta A_4 ,$$

(Eq. 50)

$$\Delta G = -\Delta A = -\Delta A_f + \Delta A_{thg} = -\Delta A_1 - \Delta A'_2 + \Delta A'_3 ,$$

(Eq. 51)

when ΔA_f is the integral energy expended to erode frozen soil; ΔA_{thg} is the integral energy expended to thaw frozen soil (thawing); ΔA_1, ΔA_2, $\Delta A'_2$, ΔA_3, $\Delta A'_3$, ΔA_4 are the energies expended, respectively, to erode soil, for accompanying thermo-physicochemical processes in the transition of soil from the frozen to thawed state, for energy-mass exchange as a result of migratory processes taking place in frozen and thawed soils.

Based on (1), SEP for frozen and thawing soils can be written as:

$$\psi_{thd} = \frac{\Delta G}{\Delta m} = -\frac{\Delta A}{\Delta m} = -\frac{\Delta A_f - \Delta A_{thd}}{\Delta m} = \psi_{fs} - \psi_{twg} ,$$

(Eq. 52)

where ψ_{thd} is SEP for thawed soils; ψ_{fng} is the thaw potential for frozen soils.

It follows that

$$\psi_{fs} = \psi_{thd} + \psi_{thg} ,$$ (Eq. 53)

that is, SEP ψ is an additive and constant value for a specific soil.

To assess the stability of non-equilibrium erosion processes for frozen and thawing soils, by analogy with (22) and (35), the following function can be proposed:

$$\frac{d^2\psi_{TWD}}{dt^2} = \frac{d^2\psi_{fs}}{dt^2} - \frac{d^2\psi_{twg}}{dt^2} \le 0.$$

(Eq. 54)

Of course, initial soil temperature T_s, function $\rho_{mig}=f(h_{mig},t,grad\ T_s)$, spatial variability of other parameters under which a water flow interacts with frozen and thawing soil influence on $\psi_{thg.}$ and, consequently, on ψ_{fs}, but, nevertheless, the constancy ψ for a particular soil is preserved. Therefore, we propose to determine the potential ψ_{fs} by formula (53).

Discussions

38 samples from A horizon of different fields were taken to determine SEP for the most common soil types of the Chuvash Republic. Komsomolskiy District - 4; Shemurshinsky District - 3; Batyrevsky District - 4; Yantikovsky District - 3; Urmarsky District - 3; Alikovsky District - 3; Porecki District - 6; Cheboksary District - 8; Krasnochetaisky District - 4. In addition, soil samples were taken from the fields of Leninskaya Iskra collective farm of Yadrinsky District. After preparing soil samples according to a unified method (sifting air-dry soil through a sieve with a hole diameter of 1 mm and vacuum humidification to the complete saturation), and determination of PES was carried out using an experimental unit of our own design [42]. Table 1 shows the results of experimental research [42].

An analysis of the research results shows that the values of SEP for the main soil types of the Chuvash Republic vary within fairly wide limits: 0.082...0.276 J/kg for varying bulk densities of soils in solid phase within the range of 2.70...2.96 g/cm^3. Nevertheless, the SEP for leached heavy loam black soils is almost 2 times higher than for alluvial sod soils, which is comparable with the data of M.S. Kuznetsov [21].

Let us compare the obtained values of SEP with the relevant values from previous studies. For this purpose, we use the most well-known formulas to determine the critical flow velocities in a hydraulic tray, derived from the principles of calculation by the limit state method:

Mirzkhulava Ts. E. [10]:

for cohesive soils with plasticity index $W_p \le 15$:

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

$$V_{\Delta p.n.e.} = 1{,}25\left(\frac{2m}{2{,}6\gamma_0 n}\left[(\gamma_2-\gamma_0)dg + 1{,}25C_d^n K\right]\right)^{0{,}5},$$

(Eq. 55)

$$V_{p.n.e.} = \lg\frac{8{,}8H}{d}\left(\frac{2m}{2{,}6\gamma_0 n}\left[(\gamma_2-\gamma_0)dg + 1{,}25C_d^n K\right]\right)^{0{,}5},$$

(Eq. 56)

for cohesive soils with plasticity index W_p> 15:

$$V_{\Delta p.n.e.} = 1{,}25\left(\frac{2m}{1{,}54\gamma_0 n}\left[(\gamma_2-\gamma_0)dg + 1{,}25C_d^n K\right]\right)^{0{,}5},$$

(Eq. 57)

$$V_{p.n.e.} = \lg\frac{8{,}8H}{d}\left(\frac{2m}{1{,}54\gamma_0 n}\left[(\gamma_2-\gamma_0)dg + 1{,}25C_d^n K\right]\right)^{0{,}5}$$

(Eq. 58)

for non-cohesive soils, by size of soil aggregates:

$$V_{\Delta p.n.e.} = 1{,}25\left(\frac{2m}{0{,}44\gamma_0 n}\left[g(\gamma_2-\gamma_0)D_{a.p.} + 2C_d^n K\right]\right)^{0{,}5},$$

(Eq. 59)

$$V_{p.n.e.} = \lg\frac{8{,}8H}{d_{95}}\left(\frac{2m}{0{,}44\gamma_0 n}\left[g(\gamma_2-\gamma_0)D_{a.p.} + 2C_d^n K\right]\right)^{0{,}5},$$

(Eq. 60)

for cohesive soils, by size of soil aggregates:

$$V_{\Delta p.n.e.} = 1{,}25\left(\frac{2m}{0{,}44\gamma_0 n}\left[g(\gamma_2-\gamma_0)d + 2C_d^n K\right]\right)^{0{,}5},$$

(Eq. 61)

$$V_{p.n.e.} = \lg\frac{8{,}8H}{d_{95}}\left(\frac{2m}{0{,}44\gamma_0 n}\left[g(\gamma_2-\gamma_0)d + 2C_d^n K\right]\right)^{0{,}5},$$

(Eq. 62)

Kuznetsov M.S. [21]: equitation 63

where $V_{\Delta\ per}$ is the permissible (non-eroding) bottom flow velocity (i.e. velocity at the level of bed projections **Δ**), m/s; $V_{\ per}$ is the bottom-averaged permissible (non-eroding) velocity, m/s; the logarithmic relationship between the permissible bottom velocities $V_{\Delta\ per}$ and the permissible averaged velocities from top to bottom for the above formulas (56), (58), (60), (62) have been taken based on Goncharov's model, assuming that the height of bed projections **Δ** is equal to 0.7 *d*); $V_{\Delta pw}$ is the bottom eroding flow velocity for soil with the initial moisture content *W*, m/s; *H* is the flow depth, m; *d* is the average size of detached parts, m; $D_{a.p.}$ is the average particle size of erosion pavement, calculated as the weighted average over the area of erosion pavement occupied by large particles of the soil surface layer, m; d_{95} is the diameter of particles that are larger than those making up 95% of soil mass, m; d_w is the weighted average diameter of water-resistant aggregates after wet sieving (Savvinov's method), with its initial moisture content *W*, m; *m* is the erosion index, depending on slope vegetation, presence of erosion pavement, and the initial soil moisture; m_1 is the erosion index, depending on the presence of erosion pavement and suspended sediments in the flow; m_2 is the index characterizing the binding action of plant root systems; *n* is the index characterizing the velocity pulsation of the flow; γ_2 , γ_0 is the bulk density of soil and water particles, respectively, t/m^3; *P* is the porosity of aggregates, %; α is the angle of inclination of the flow channel, deg.; C_d^n is the nominal surface durability of soil, t/m^2 ; C_w is the cohesive strength (Tsytovich's method) between soil and initial moisture content *w* after rapid flooding of its surface and saturation up to the moisture storage capacity, t/m^2; *K* is the uniformity coefficient; *I* is the coefficient characterizing the soil consistency and depending on the bulk mass of soil.

The critical flow velocities, determined by formulas (55...63), characterize the conditions for the erosion of soil samples in the hydraulic tray, while SEP ψ_m calculated using the experimental data and formulas [42] (64) and (65),

$$\psi_{TWD} = \frac{Q_{sp}^2}{2B^2h_2^2} + \frac{Q_w\rho_w}{2B^2\rho_s(Q_{sp}-Q_w)}\left(\frac{Q_{sp}^2}{h_2^2} - \frac{Q_w^2}{h_1^2}\right).$$

(Eq. 64)

$$\psi_{TWD} = \frac{t}{2B^2m_s}\left[\frac{Q_w^3\rho_w}{h_1^2} - \left(Q_w + \frac{m_s}{\rho_s t}\right)^3\frac{\rho_s(\rho_w Q_w t + m_s)}{h_2^2(\rho_s Q_w t + m_s)}\right],$$

(Eq. 65)

allows to determine the amount of energy required to destruct a unit mass of soil sample in the hydraulic tray at a certain "critical" flow velocity (where *B* is the width of the tray, h_1 , h_2 is the height of the water flow and suspension, respectively, $\rho_w, \rho_s, \rho_{sp}$ is the density of water, soil, and suspension, respectively; Q_w, Q_{sp} is the flow rate of water and suspension, respectively; m_s is the soil mass eroded by the flow over a time period *t*).

Consequently, the above equations describe the same process, but equations (55 ... 63) are expressed kinematically, and equations (64) and (65) – energetically. Indeed, the unit of the potential ψ_T is [J/kg] or [m^2/s^2], and the unit of critical velocity – [m/s]. Therefore, using the theory of dimensions:

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

$$\left.\begin{aligned}\psi_{TWD1} &= V^2_{p.n.e.},\\ \psi_{TWD2} &= 1{,}25^{-2} V^2{}_{\Delta p.n.e.} \lg^2\left(\frac{8{,}8H}{d}\right),\\ \psi_{TWD3} &= 1{,}25^{-2} V^2{}_{\Delta pw} \lg^2\left(\frac{8{,}8H}{d}\right).\end{aligned}\right\}$$

(Eq. 66)

The above dependencies (66) take into account the permissible (non-eroding) averaged velocities from top to bottom, characterizing most fully the energy of the flow, but not the bottom flow permissible velocities that take into account the energy of the flow at the level of bed projections.

Similar results can be obtained by examining studies on determining the permissible (non-eroding) bottom velocity in the plunge pool and in centrifugal devices [42]. Table 2 shows some results of the determination of ψ_f potential, using (66) and based on the experimental data [10, 21, 42].

By comparing numerical values ψ_{TWD}, shown in Tables 1 and 2, it can be seen that the values $\psi_{TWD}$are of the same order of magnitude and, therefore, show the comparability of the considered studies.

CONCLUSIONS:

The developed theoretical fundamentals for determining the soil erosion potential enables us to draw the following conclusions.

1. We propose to use the thermodynamic potential method to describe soil erosion processes. It has been shown that the Gibbs thermodynamic potential is the most suitable for these purposes since it is possible to design devices for experimental measurement of independent variables included in the relevant differential equations (16), (31), (48) and (49).

2. SEP is an additive and constant value for a given soil and expresses its properties, i.e. it can be adopted as a single integral criterion for assessing the resistance of soils to erosion.

3. Functions (22), (35) and (54), representing the second derivatives of SEP ψthd over a time period t have been proposed to assess the stability of erosive non-equilibrium processes in the context of thermodynamics.

REFERENCES:

1. .Kuznetsov M.S., Rozhkov A.G., Glazunov G.P. Sovremennoye sostoyaniyeiperspektivyrazvitiyaissledova niypozashchitepochvoterozii v Rossii [The current state and prospects for the development of research on soil erosion protection in Russia]. Pochvovedeniye Journal, 1994, No. №4, pp. 100-109.
2. Zaslavsky M.N. Eroziya pochv [Soil erosion]. Moscow, Mysl Publ., 1978, 245 p.
3. Surmach G.P. Vodnaya eroziyai bor'ba s ney [Soil erosion by water and countering it]. Leningrad, Gidrometeoizdat Publ, 1976, 254 p.
4. Sobolev S.S. Razvitiye erozionnykhprotsessovnaterritorii Yevropeyskoy chasti SSSR i bor'ba s nimi [Development of erosion processes on the territory of the European part of the USSR and countering them]. Moscow, AN SSSR, v. 1, 1948, 307 p; v. 2, Moscow, AN SSSR, 1960, 248 p.
5. Bennett H.H. Some comparisons of the proerties of humid tropical and humid-temperate American soils. Soil Science, 1926, v. 21, p. 249-275.
6. Ryabov E.I. Dorozhezolota [More valuable than gold]. Zemledeliye Journal, 1988, No. 9, pp. 25-29; 1988, No. 11, pp. 27-31.
7. Konke G., Bertran A. Okhrana pochvy [Soil protection] (In Russian), ed. by Sobolev S.S. Moscow, Selskokhozyaystvennaya literatura Publ, 1962, 343 p.
8. Magomedova A.V. Prognoz erozionnykhprotsessovitransportananosov : Dissertatsiya d.t.n. [Forecast of erosion processes and sediment transport: Thesis for a Candidate Degree in Technical Sciences]. Makhachkala, 1982, 426 p.
9. Mirzkhulava Ts. E. Inzhenernyye metodyraschetaiprognozavodnoyerozii [Engineering methods for calculating and prediction of water erosion]. Moscow, Kolos Publ., 1970, 240 p.
10. Mirzkhulava Ts. E. Osnovy fizikiimekhanikieroziirusel [Physical and mechanical engineering fundamentals for riverbed erosion]. Leningrad, Gidrometeoizdat Publ., 1988, 303 p.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

11. Erosiyapochvy [Soil erosion]. (Translation in Russian foreword by Pushkarev M.F.). Moscow, Kolos Publ., 1984, 415 p.
12. ELE International Limited 1988. Guelph Permeameter Operating Instructions
13. Elrick D.E., Reynolds W.D., Baymgartner N., Tan K.A. andBradshow K.L. In Situ Measurement of Hudraulic properties of soils using the Guelph Permeameter and the Guelph Infiltrometer. In Proc. Third International Workshop on Land Drainage, 1987, Columbus, OH, Dec, p. 7-11.
14. Reynolds W.D. and Elrick D.E. In Situ Measurement in the Vadose Zone of Field-Saturated Hudraulic Conductivity, Sorptivity and the Corductivity - Pressure Head Relationship, - 1986, Groundwater Monitoring Review, v. 6, p. 84-95.
15. Reynolds W.D. and Elrick D.E. In Situ Measurement of Field-Saturated Hudraulic Conductivity, Sorptivity and □ - Parameter Using the Guelph Permeameter // Soil Science, - 1985, v. 140, p. 292-302.
16. Globus A.M. Eksperimental'naya gidrofizikapochv [Experimental hydrophysics of soils]. Leningrad, Gidrometeoizdat Publ., 1969, 355 p.
17. Globus A.M. Pochvenno-gidrofizicheskoyeobespecheniyeagroekologicheskikhmatematicheskikhmodeley. [Soil and hydrophysical data in agroecological mathematical modelling]. Leningrad, Gidrometeoizdat Publ., 1987. - 427 p.
18. Philip J. R. Teoriya infil'tratsii. Izotermicheskoye peredvizheniyevody v zone aeratsii [Theory of infiltration. Isothermal movement of water in the aeration zone.], ed. by Averyanov S.F. Leningrad, Gidrometeoizdat Publ., 1972, pp. 6-17.
19. Reynolds W.D., Elrick D.E., Ponded infiltration from a single ring: 1. Analisis of stcady flow. S.S.S.A., - 1990, I.58, p. 1233-1241.
20. Grigoryev V.Ya. Nekotoryye metodicheskiyevoprosylaboratornogoizucheniyaerozionnykhprotsessov. Sovremennyye aspektyizucheniyaerozionnykhprotsessov [Some methodological issues of laboratory study of erosion processes. Bulletin: Modern aspects of the study of erosion processes]. Novosibirsk, Nauka Publ., 1980, pp. 63-65.
21. Kuznetsov M.S. Protivoerozionnaya stoykost' pochv [Anti-erosion resistance of soils]. Moscow, MGU Publ., 1981, 135 p.
22. Larionov G.A. Eroziya i deflyatsiya pochv. [Erosion and deflation of soils]. Moscow, MGU Publ., 1993, 200 p.
23. Shvebs G.I. Formirovaniye vodnoyerozii, stokananosoviikhotsenka (naprimere Ukrainy iMoldavii) Formation of water erosion, sediment drainage and their assessment (on the example of Ukraine and Moldova). Leningrad, Gidrometeoizdat Publ., 1974, 183 p.
24. Vilensky D.G. Svoystva pochv, opredelyayushchiyepodatlivost' ikheroziii metody issledovaniya etikh svoystv. Bor'ba s eroziyey pochv v SSSR [Soil properties determining the compliance of their erosion and methods for studying these properties. Countering soil erosion in the USSR]. Moscow, AN SSSR Bulletin, 1938, pp.111-129.
25. Gussak V.B. Izucheniye protsessov smyva i erozii v lotke. Pochvovedeniye [Studying soil loss and erosion processes in a tray], Pochvovedenie. No. 1, 1945, pp. 27-39.
26. Lutz V.F. The physicochemical properties of soils effecting erosion. Missouri Agr. Exp. Sta. Research, Bul., 1931, pp. 5-45.
27. Wischmeier W.H., Smith D.D. Predicting Rainfall erosion Losses // Agriculture Handbook, - 1978, United States Department of Agriculture, Washington, D.C.
28. Saupe G. Die Erosivitat die Niederschlage im Suden der DDR - ein Beitrag zur guantitativen Prognose der Bodenerosion // Arch. Naturschulz Landschaftsforsch., 1985, 25, 3, s. 155-169.
29. Mutchler C.K., Carter C.E. Soil erodibility variation during the year // Trans. ASAE, Joseph, Mich., 1983, 26, 4. p. 1102-1104.
30. Johnson R.R. Putting soil movement into perspective // Product. Agr., -1988, 1, 1, p. 5-12.
31. Wall G.J., Dicksinson W.T., Rudra R.P., Coote D.R. Seasonal soil erodibility variation in sauthwestern Ontario // Can. J. Soil Sci., - 1988, 68, p. 417-424.
32. Makkaveev N.I. Ruslo reki i eroziya v yeye basseyne. [Riverbed and its erosion]. Moscow, AN SSSR Publ., 1955, 346 p.
33. Makkaveev N.I., Chalov R.S. Ruslovyye

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

protsessy [Riverbed processes]. Moscow, MGU Publ., 1986, 264 p.
34. Kondratiev S.A. Gidrodinamicheskoye modelirovaniye vodnoerozionnykh protsessov na sklonakh i malykh vodosborakh. Trudy 5 Vsesoyuznogo gidrologicheskogo syezda. [Hydrodynamic modeling of water erosion processes on slopes and small watersheds. Proceedings of the 5th All-Union Hydrological Congress]. Leningrad, Kniga 2, tom 10, “Ruslovyye protsessy i nanosy”, 1986, pp. 134-141.
35. Sukhanovsky Yu.P. Razrabotka imitatsionnykh modeley vodnoy erozii pochv. Pochvozashchitnaya tekhnologiya poliva i povysheniye nadezhnosti protivopavodkovoy zashchity [Development of simulation models for soil erosion by water. Soil-protective irrigation technology and increasing the reliability of flood protection]. Pushchino, Sbornic nauchnych trudov, 1990, pp. 100-102.
36. Shvebs G.I. et al. Raschet sklonovykh nanosov i ovrazhnoy erozii dlya obosnovaniya protivoerozionnykh melioratsiy. Trudy 5 Vsesoyuznogo gidrologicheskogo s"yezda. T. 10. - Ruslovyye protsessy i nanosy, kn. 2. [Calculation of slope sediments and gully erosion to justify erosion melioration. Proceedings of the 5th All-Union Hydrological Congress. V. 10. “Channel processes and sediments”, Book 2.]. Leningrad, Gidrometeoizdat, 1986, pp.141-148.
37. Franti T.G. et. al. Modeling the mechanical effects of incorporated residue on rill erosion // Ame. soc. of agric. engineers, 1987, Paper 87-2010, p. 15.
38. Griffen M.L. et. al. Estimating soil loss on topographically nonuiform field and form units // Soil and Water Conserv., - 1988, 43, p. 326-331.
39. Hirschi Michael C. et. al. KYERMO - a physically based research erosion model. Part 2. Model sensitivity analysis and testing // Trans. ASEA, -1988, v. 31. p.814-820.
40. Van Liew M.W., Saxton K.E. Dinamic Simulation of Sediment Discharge from Agricaltural Watersheds // Trans. ASEA, - 1984, v. 27. p.1087-1093.
41. Foster G.R. et al. User requirements: USDA - water erosion prediction project (WEPP) // Amer. soc. of agric. engineers, 1987, p. 6, Paper 87-2539.
42. Maksimov I.I., Maksimov V.I. Energeticheskaya kontseptsiya erozionnoy ustoychivost antropogennykh agrolandshaftov [Energy concept of erosion resistance for anthropogenic agricultural landscapes]. Cheboksary: Chuvash State Agricultural Academy Publ., 2006, 304 p.
43. Stratonovich R.L. Nelineynaya neravnovesnaya termodinamika [Non-linear non-equilibrium thermodynamics]. Moscow, Glavnaya redaktsiya fiziko-matematicheskoy literatury, 1985, 480 p.
44. Bazarov I.P. Termodinamika: Uchebn. posobiye dlya un-tov. 2-ye izd. pererab. i dop. [Thermodynamics. A manual for graduate students, 2nd ed.]. Moscow, Vyschaya schkola Publ, 1976, 447p.
45. Maksimov I.I., Sirotkin V.M. Energeticheskiy podkhod k izucheniyu erozionnykh protsessov // Povysheniye effektivnosti vuzovskoy nauki i uluchsheniye kachestva podgotovki spetsialistov s vysshim obrazovaniyem: Sbornik tezisov [An energy approach to studying erosion processes. Increasing the effectiveness of university science and improving the quality of postgraduate education. Collection of abstracts]. Cheboksary, 1990.
46. Bogomolov A.I., Mikhailov K.A. Gidravlika [Hydraulics]. Moscow, Stroiizdat Publ., 1972, 648 p.
47. Kaiser J., Statisticheskaya termodinamika neravnovesnykh protsessov. Perevod s angliyskogo, predislovie YU. L. Klimontovicha [Statistical thermodynamics of non-equilibrium processes. Translated from English. Foreword by Yu.L. Klimontovich]. Moscow, Mir Publ. 1990, 608 p.
48. Philip I.R. The theory of infiltration: 4. Sorptivity and algebraic infiltration equations // Soil Sci. Soc. Amer. - 1957. - vol. 84, p. 257 - 264.
49. Reynolds W.D., Elrick D.E., Ponded infiltration from a single ring: 1. Analisis of stcady flow. S.S.S.A., - 1990, I.58, p. 1233-1241.
50. Bobrovitskaya N.N. Grafoanaliticheskaya model' formirovaniya stoka nanosov s raspakhannykh sklonov. Trudy 5 Vsesoyuznogo gidrologicheskogo

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

s"yezda. t. 10. Ruslovyye protsessy i nanosy. Kniga 2 [A graph-analytical model for forming sediment runoff from plowed slopes. Proceedings of the 5th All-Union Hydrological Congress. Vol. 10. “Channel processes and deposits”. Book. 2]. Leningrad, 1986, pp. 126-134.
51. Gussak V.B. Pribor dlya uskorennogo opredeleniya erodiruyemosti pochv i nekotoryye rezul'taty yego primeneniya [Soil erodibility accelerated assessment device and some results of its application]. Pochvovedenie Journal, 1946, No. 8, pp 481 - 491.
52. Mikrostroyeniye merzlykh porod. Pod red. E.D. Yershova [Microstructure of frozen rocks / Ed. by Ershov E.D.]. Moscow, MGU Publ., 1988, 188 p.

Equitation 63

$$V_{\Delta pw} = 1{,}55\left(\frac{m_1 m_2 g}{\gamma_0 n}\left[\left(1-\frac{P}{100}\right) d_w(\gamma_2-\gamma_0)(\cos\alpha-\sin\alpha)+1{,}25KlC_w\right]\right)^{0{,}5},$$

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

PROBLEMAS DE AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA PARASÍTICA DA ÁGUA NAS FONTES USADAS PELA POPULAÇÃO

PROBLEMS OF PARASITIC SAFETY EVALUATION OF WATER IN SOURCES USED BY POPULATION

ПРОБЛЕМЫ ОЦЕНКИ ПАРАЗИТНОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ВОДЫ ИСТОЧНИКОВ ВОДОПОЛЬЗОВАНИЯ НАСЕЛЕНИЯ

KUZNETSOVA, Kamalya Yu.*; ZELYA, Olga P.; ZHNAKINA, Zhanna V.; MANIYA, Tamari R.

Sechenov First Moscow State Medical University
20 Pirogovskaya Str., 119435, Moscow, Russian Federation

** Corresponding author*
kama.123@yandex.ru
Received 2018; received in revised form 2018; accepted 2018

RESUMO

A importância do monitoramento estatal dos corpos hídricos nos indicadores parasitológicos é atualizada no artigo. Estabeleceu-se que relatórios resumidos de empresas federais envolvidas no monitoramento estatal de corpos hídricos são formados sem levar em conta os sistemas parasitários naturais e a detecção insuficiente da poluição parasitológica local. Ao mesmo tempo, a taxa de incidência na Federação Russa em relação à giardíase devido ao fator de transporte de água tem sido consistentemente alta por vários anos. Criptosporidiose entre a população não é detectada devido ao uso de métodos insensíveis de diagnóstico. Com um estado tão inexplorado de fatores que afetam a saúde pública, o nível de causas etiológicas não identificadas de infecções intestinais agudas, infecções do trato respiratório superior e pneumonia adquirida na comunidade permanece alto na Federação Russa: 70% e 90%, respectivamente. O artigo apresenta dados sobre a contaminação parasitária de corpos de água na bacia hidrográfica do rio Moscou, obtidos com uma pesquisa de especialistas independentes.

Palavras-chave: estabelecimento de padrões ambientais (classificação higiênica), índices parasitológicos, monitoramento hidrobiológico, protozoários de vida livre, segurança parasitária.

ABSTRACT

The importance of state monitoring of water bodies on parasitological indicators is actualized in the article. It was established that summary reports of federal enterprises involved in the state monitoring of water bodies are formed without taking into account natural parasitic systems and insufficient detection of local parasitological pollution. At the same time, the incidence rate in the Russian Federation regarding giardiasis due to the water transport factor has been consistently high for several years. Cryptosporidiosis among the population is not detected due to the use of insensitive methods of diagnosis. With such an unexplored state of factors affecting public health, the level of unidentified etiological causes of acute intestinal infections, upper respiratory tract infections, and community-acquired pneumonia remains high in the Russian Federation: 70% and 90%, respectively. The article presents data on parasitic contamination of water bodies in the catchment area of the Moskva River, obtained with an independent expert survey.

Keywords: environmental standards (hygienic rating), parasitologic indices, hydrobiological monitoring, free-living protozoans, parasitic safety.

АННОТАЦИЯ

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

В статье актуализируется важность государственного мониторинга водных объектов на паразитологических показателях. Было установлено, что сводные отчеты федеральных предприятий, участвующих в государственном мониторинге водных объектов, формируются без учета природных паразитарных систем и недостаточны для обнаружения местного паразитологического загрязнения. В то же время уровень заболеваемости в Российской Федерации в отношении лямблиоза из-за фактора водного транспорта постоянно был высоким в течение нескольких лет. Криптоспоридиоз среди населения не выявлен из-за использования нечувствительных методов диагностики. При таком неизведанном состоянии факторов, влияющих на здоровье населения, уровень неопределенных этиологических причин острых кишечных инфекций, инфекций верхних дыхательных путей и внебольничной пневмонии остается высоким в Российской Федерации: соответственно 70 и 90%. В статье представлены данные о паразитном загрязнении водных объектов в водосборном бассейне реки Москва, полученном при независимом экспертном опросе.

Ключевые слова: *гигиеническое нормирование, паразитологические показатели, гидробиологический мониторинг, свободнодвижущиеся простейшие, паразитарная безопасность.*

INTRODUCTION

One of the priority tasks of the Russian Federation Water Strategy is the development of water-bodies' state monitoring system including the development and modernization of the state observation system within the frameworks of the Complex of Russian Water Bodies Control and agreements with the water policy of European Union (Directive…, 2000; Water Strategy…, 2009; Website of Federal Service…). World Health Organization recommends determining the quality of drinking water by the following parasitic parameters: *Fasciola hepatica, F.gigantica;* types of genus *Acanthamoeba; Balamuthia mandrillaris, Naegleria fowleri, Giardia intestinalis, Isospora belli,* types of genus *Cryptosporidium; Toxoplasma gondii, Balantidium coli* (Drinking Water…, 2004). Currently central for our country is the latter 8, for 5 of which hygienic standards for water epidemic safety have not been developed and the assessment of the water transmission routes risk of these pathogens for people have not been made. Of the listed agents the types of genus *Acanthamoeba* (*Acahthamoebidae* family), *Balamuthia mandrillaris (Leptomyxidae* family) and *Naegleria fowleri (Vahlkampfiidae* family) refer to the group of free-living water protozoan that can change to the parasitic way of life. There exist more than 11 types that refer to these 3 families, the medical importance of the biggest part of which remains unstudied (Krylov, 1996). Pathogenic power of *Naegleria fowleri* amebas during the past century was in reasonable detail studied on experimental animals (Centers…, 2011; Clin, 1980; Oddó, 2006; Swanson and Hammer, 2000) and it was proved that in case of intranasal infection amebas penetrate nasal mucosa, cause its ulceration and destruction, penetrate via the olfactory nerve into b.olfactory, which leads to development of vast brain involvement, acute meningoencephalitis, focal pneumonia and quick death of animals. Numerous experimental and clinical researches proved causation of free-living amebas of *Acanthamoebae* family in the development of acute respiratory diseases (Cerva, 1967; Chang, 1974; Culbertson, 1971; Gordeeva, 1970, 1978; Pokrovskiy *et al*., 2009). Independent types of free-living parasitic amebas were systematized into 2 classes: *Entamoebidae* and *Lobosea* (the family of *Acanthamoebae* Sawyer at Griffin, 1975; the family of *Hartmanellidae* Volkonsky, 1931; the family of *Naegleriidae* Page, 1976) (Culbertson, 1971; Krylov, 1996).

The group of protozoan free-living in soil and water systems are referred in Russian epidemiology to the agents of sapronosis – "an ancient group of diseases characterized by the absence of any specialization of the agent with respect to the hosts" (Sergiev and Filatov, 2010). However, the existing thesis on discretization of epidemic manifestations of sapronosis infections is subject in this work to critical analysis due to insufficient knowledge on the problem and absence of systematic observation and accumulation of information on the cause and mechanisms of the transformation of the saprophile existence phase of natural one-celled geobionts and reservoir inhabitants into the parasitic one (Onishchenko, 2003). Under the influence of anthropogenic load on the environment during the last years there have

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

been observed the activation of biological factors of human environment and changes of stable parasitic ecosystems (Aslanova *et al.*, 2016; Onishchenko, 2003) that “are not investigated in detail from the point of view of classification of their hazard for the health of population" (Guzeeva and Sergiev, 2011). In our research, we adhere to the systematic approach to parasitocenosis as a natural factor determining the multi-component structure of infectious process involved in which are agents of different taxonomical groups. The prove are low indices of etiological exposure of community-acquired pulmonary fevers, acute upper respiratory tract infections with multiple and unspecified localization (up to 90%) and acute enteric infections of unspecified etiology (more than 70%) (Guzeeva and Sergiev, 2011; Website of Federal Supervision…, n.d.) of the RF population over the period of many years. Modern condition of public the healthcare can be characterized as a failure of traditional epidemiological and ecological approaches to a health evaluation. The introduction of special account of natural and modified parasitocenosis and integration into the classification of the hazard by groups of water bodies presupposes perfection of legal and regulatory solutions substantiated by the relevant analysis of a single accounting base formed on the basis of dynamic and systematic observation data and its complex evaluation.

Purpose: to present scientifically grounded proposals on the introduction of parasitological indicators into the register of state monitoring of water bodies.

MATERIALS AND METHODS

A survey was conducted in 24 points of the Moskva River and its main tributaries. (Figure 1). A total of 216 water samples and 216 bottom sediment samples were examined by laboratory methods.

Laboratory methods were used, based on the filtration of 112 water samples, which were passed through analytical membranes (1.5 μm). The filtrate was then washed with distilled water and poured into test tubes. The resulting suspension was subjected to centrifugation, and the precipitate was examined. Preparations were previously stained with 1% Lugol solution and microscopized for the presence of helminthes eggs and protozoan cysts with an increase of x100, x400, x1000.

Oocysts of cryptosporidium were identified by the method of immunomagnetic separation.

Re: Lugol solution (LS): 5.0g iodine +10.0 KI g +100m distilled water

1% Lugol solution = 5.0 ml LS + 20.0 ml Physiological saline solution of sodium chloride.

The results are summarized by the method of comparative analysis of the research results in relative values. Statistical tests were not applied.

RESULTS AND DISCUSSION

The infrastructure of the water-parasitic system in the observed points was represented by such types as *Sarcomastigophora* – 2.5%, *Ciliophora* - 84%, *Microspora* – 0.5%, and differed species diversity: *Protey*, *Entamoeba spp.*, *Paramecium caudatum*, *Euglena viridis*. The causative agents of intestinal protozoal infections were *Lamblia intestenalis, L.canis, Balantidium spp., Cryptosporidium spp.* (Table 1).

Moskva river. There were conducted 156 studies of water- and bottom silt samples. The share of water samples not corresponding to hygienic requirements by the content of cysts of pathogenic intestinal protozoans *L.intestenalis* constituted 55.5%. The share of samples containing free-living forms of water protozoans *Entamoeba spp.* constituted 46.6%.

River Setun: There were conducted 30 studies of water- and bottom silt samples. The share of water samples was not corresponding to hygienic requirements by the content of cysts of pathogenic intestinal protozoans *Lamblia spp., Cryptosporidium spp.* constituted 66 %. The share of samples containing free-living water protozoan *Entamoeba spp.* constituted 100.0 % (in all research points).

River Skhodnya: There were conducted 18 studies of water- and bottom silt samples. The share of water samples not corresponding to hygienic requirements by the content of cysts of pathogenic intestinal protozoans *L.intestenalis, Cr.muris* constituted 23 %. The share of samples containing free-living water protozoan *Entamoeba* spp.was 35.0 %.

River Yauza: 6 tests of water- and bottom silt samples were conducted. All water samples corresponded to hygienic requirements by

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

parasitologic indices. The share of samples containing free-living water protozoan *Entamoeba* spp. was 15.6%.

B. Novo-Devichiy pond: There were conducted 6 studies of water- and bottom silt samples. There were found cysts of intestinal protozoans *L.intestenalis, L.canis, B.coli, Cr.parvum, Cr.muris,* and vegetative forms of Entamoebae spp. The share of samples not corresponding to hygienic requirements was 100%.

CONCLUSIONS:

Preliminary results of conducted by us screening studies of water bodies in the Moscow Region speak for a sufficient prevalence of free-living protozoan of *Amoebae* group. This problem presupposes a specialized approach to the study and account of the results, formation of a data base on the bodies of water having an economic significance. The content of cysts and vegetative forms of free-living protozoans of *Amoebae* group in the researched water bodies constituted around 60 %. In 50 % of samples there were found cysts of intestinal protozoans pathogenic for animals; in 4 of 5 water bodies, there were found parasitic pathogens of an intestinal group not accounted for by the official statistics (cysts of intestinal protozoans *L.intestenalis, L.canis, B.coli, Cr.parvum, Cr.muris*).

Independent data have been obtained on the high level of contamination by pathogens of parasitic diseases of water bodies in the Moscow region, which increases the risk of contamination of people with the use of recreational waters. This is confirmed by the high prevalence of giardiasis (166.65 cases per 100.000 population) and the presence of a potential risk of infection of the population with cryptosporidiosis, respiratory infections of amoeba etiology.

It is established that the federal system of observations does not take into account parasitic pollution and does not possess reliable information on the sanitary status of water bodies on parasitological indicators.

The necessity to incorporate parasitologic indices into a special survey of hydro-biological monitoring will permit, in our opinion, to systematize the database of natural parasitocenosis of water ecosystems by their hazard class and to develop the methods for health risk assessment.

Consolidated data on the condition of water bodies by the indices of parasitic safety is formed separately within the framework of highly specialized departmental researches of the participants of state monitoring and are not included into the single accounting base of the RF water bodies' status; this impedes a full-fledged analysis of relevant factors in contamination by parasitic pathogens of water-consumption sources and a complex health risk evaluation.

REFERENCES:

1. Aslanova, M. M.; Kuznetsova, K. Yu.; Morozov, Ye. N.; Effective Laboratory Diagnostics as the Basis of Parasitic Diseases' monitoring, *Health of Population and the Living Environment* **2016**, 1(274), 34.
2. Centers of Disease Control and Prevention/Supervision over the outbreaks of the diseases transferred by water connected with drinking water — the USA, 2007-2008, *MMWR* **2011,** 60(No. SS-12), 38.
3. Cerva, L.; Intranasal intrapulmonary and intracardial inoculation of experimental animals with *Hartmannella castellanii*, *Folia Parazitol*. **1967**, 14(3), 207.
4. Chang, S. L.; Cytopatic and pathogenic differences among geographic strains of pathogenic *Naegleria* and their bearing on the epidemiology of primary amoebic meningoencephalitis /PAM/, *3rd Intern. Congr. Parazitol., Munich* **1974**, 187.
5. Clin, J.; The pathogenicity of *Legionella* in fresh water and soil amoeba, *Pathol.* **1980**, 33, 1179.
6. Culbertson, C. C.; Pathogenic *Naegleria* and *Hartmannella* /*Acantamoeba*/, A*nn. Rev. Microbiol.* **1971**, 25, 231.
7. *Directive 2000/60/EEC of European Parliament and Council of October 23, 2000*.
8. *Drinking Water Quality Assurance Manual.* World Health Organization, Geneva **2004**, 1, 63.
9. Gordeeva, L. M.; *Amoebae Limax*-group from respiratory tract of man: interaction

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

with cellcultures, *IV Intern. Congr. Parazitol., Warszawa, Poland, 19-26 VIII* **1978**, sec. A, 38. Gordeeva, L. M.; Primary Amebic Meningocephalitis caused by free living ameba *sp.Hartmannella*, *Akantamoeba* and/or *Naegleria*, *Meditsinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni* **1970**, 2, 227.

10. Guzeeva, T. M.; Sergiev, V. P.; Condition of Parasitary Diseases Diagnostics in the Russian Federation, *Meditsinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni* **2011**, 4, 43.
11. Krylov, M. V.; *Identifier of parasitic protozoans,* Zoological Institute: Saint-Petersburg, 1996.
12. Oddó, B. David, Infecciones por amebas de vida libre. Comentarios históricos, taxonomía y nomenclatura, protozoología y cuadros anátomo-clínicos, *Rev Chil Infect* **2006**; 23(3), 200. Available at: www.sochinf.cl. Accessed on 20/12/2017.
13. Onishchenko, G. G.; Criteria for Determining the Danger of Environment Pollution, *Gigiyena i sanitariya* **2003**, 6, 3.
14. Pokrovskiy, V. I.; Pak, S. G.; Briko, N. I.; Danilkin, B. K.; *Infectious Diseases and Epidemiology*, 2009.
15. Sergiev, V. P.; Filatov, N. N.; *Human and His Parasites: Antagonism of Genomes and Molecular Interaction*, Nauka: Moscow, 2010.
16. Swanson, V. S.; Hammer, B.; *Legionella pneumophila* pathogenesis: a fatal path from amoebas to macrophages, *Ann. Rev. microbiol.* **2000**, 54, 567.
17. *Water Strategy of the Russian Federation for a period up to 2020. Approved by the Russian Federation Government Executive Order of August 27, 2009. No. 1235-p.*
18. *Website of Federal Service for Supervision of Nature Resources*. Available at: http://www.mnr.gov.ru. Accessed on 20/12/2017.
19. *Website of Federal Supervision Agency for Customer Protection and Human Welfare.* Available at: http://rospotrebnadzor.ru. Accessed on 20/12/2017.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 1. *Results of parasitological research of water samples from Moskva River and Setun River*

Sample	Name of the reservoir	Parasitological indicators		
		Viable Helminth Eggs	Viable cysts of pathogenic protozoa	M+m n/25 l
1	B. Novodevichiy Pond	0	*L.intestenalis ++*	6+1.1
			Balantidium coli ++	1.5+0.4
			Cr.parvum ++	1.5+1.2
			Entamoebae ++	10+0.4
2	Savvinskaya Quay	Toxocara sp.	*L.intestenalis +*	2+0.4
			Balantidium coli +	1+0.9
			Cr.parvum ++	1.5+1.1
			Entamoebae ++	5+1.5
3	Krasnopresnenskaya Quay	0	*0*	0
4	Shelepikhinskaya Quay	Toxocara sp.	*L.intestenalis +*	2+0.4
			Cr.parvum ++	1.5+0.9
			Entamoebae ++	10+1.1
5	Frunzenskaya Quay	0	*L.intestenalis +*	2+0.4
			Entamoebae +	5+1.1
6	Moskvoretskaya Quay	Helminth	*L.intestenalis ++*	6+1.1
7	Kotel'nicheskaya Quay	Toxocara sp.	*0*	
8	Serenebryanicheskaya Quay	Helminth	*Entamoebae ++*	5+1.5
9	Krasnokholmskaya Quay	Toxocara sp.	*Entamoebae ++*	5+1.5
10	Luzhetskaya Quay	0	*Entamoebae ++*	5+1.5
11	1-st Chobotovkaya Alley	0	*Entamoebae ++++*	18+1.8
12	Staroorlovskaya str.	Toxocara sp.	*L.intestenalis ++*	6+1.1
13	Skolkovskoye highway	Helminth Toxocara sp.	*Entamoebae ++++*	18+1.8
14	Berrshkovskaya Quay	Helminth 0	*Entamoebae +++*	18+1.8
15	Pudovkina str.	0	*Entamoebae ++++*	18+1.8

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

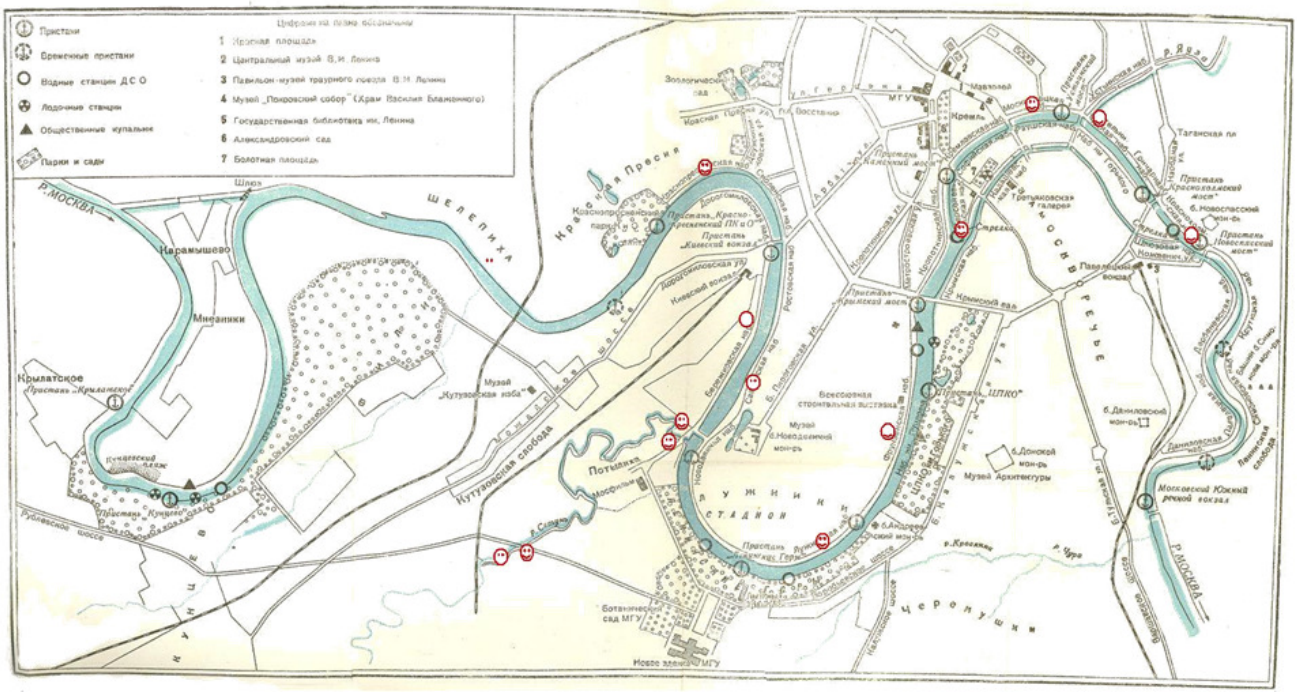


Figure 1.*Scheme of the sampling route from the Krylatskoye pier to the South River Port of the Moskva River*

Note: ☺ - Sampling Point

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

SÍNTESE E ESTRUTURA DE ADJUVENTES ARTIFICIAIS PARA PREPARAÇÃO DE VACINAS SINTÉTICAS

SYNTHESIS AND STRUCTURE OF ARTIFICIAL ADJUVANT FOR PREPARATION OF SYNTHETIC VACCINES

СИНТЕЗ И СТРОЕНИЕ ИСКУССТВЕННОГО АДЪЮВАНТА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ ВАКЦИН

S. V. Savina[1]*, V. M. Skorlyakov[1], D. A. Zayarskiy[2]

[1]Saratov State Vavilov Agrarian University
410012, 1, Teatralnaya pl., Saratov, Russia
[2]Saratov State University
410054, 77, Politekhnicheskaya str., Saratov, Russia

** Corresponding author*
savinas77@mail.ru

Received 28 June 2018; received in revised form 26 November 2018; accepted 23 November 2018

RESUMO

O objetivo da pesquisa foi desenvolver uma nova abordagem para projetar uma nova estrutura na criação de vacinas sintéticas. Conseguimos sintetizar um adjuvante polieletrolítico. Como material de partida, utilizou-se cloreto de polidialildimetilamônio modificado com íons de hidrato de halogênio. Os testes pré-clínicos realizados em animais de laboratório não demonstraram desvios em seus parâmetros fisiológicos e toxicológicos.

Palavras-chave: *adjuvante, polímero, linfócito T, linfócito B, anticorpo*.

ABSTRACT

The aim of the research was to develop a new approach to designing a new structure in creating synthetic vaccines. We succeeded in synthesizing a polyelectrolyte adjuvant. As a starting material, we used polydiallyldimethylammonium chloride modified with halogen hydrate-ions. The pre-clinical tests carried out on laboratory animals demonstrated no deviations in their physiological and toxicological parameters.

Keywords: *adjuvant, polymer, T-lymphocyte, B-lymphocyte, antibody*.

АННОТАЦИЯ

Для совершенствования подхода в создании новой структуры для получения синтетических вакцин удалось синтезировать полиэлектролитный адъювант. Исходным сырьем для создания, которого был использован полидиаллилдиметиламмоний хлористый модифицированного гидрат-ионами галогенов. Проведенные доклинические исследования на лабораторных животных показали отсутствие отклонений в физиологических и токсических параметрах организма.

Ключевые слова: *адъювант, полимер, Т-лимфоцит, В-лимфоцит, антитело*.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUCTION

Modern biotechnological developments provide for creation of numerous versions of vaccinal preparations.

Achievements in immunology, molecular biology and biochemistry serve as a basis for creation of antibacterial and antiviral vaccines.

Creating synthetic vaccines, it is necessary to obtain such artificial bioorganic complex which can ensure an immune response of a body to the proper antigen notwithstanding its genetically subdued low responsiveness. Only in this case will synthetic vaccines be a significant step forward by comparison with the natural ones that represent preparations of weakened or killed viruses or preparations of antigen substances extracted from them (Petrov & Khaitov, 1979).

There have been created experimental synthetic vaccines for diphtheria, cholera, streptococcosis, hepatitis B, flu, foot-and-mouth disease, tick-borne encephalitis, pneumococcal and salmonella infections.

MATERIALS AND METHODS

An important condition for the development of certain carriers (adjuvant substances) is creation of a preparation that can remain for a long time in a body with an active immune system without any local or general negative reactions in the body.

To develop an effective immune response, in many vaccines it is necessary to add adjuvants (substances) which often cause undesirable side effects (Vorobiev & Vasiliev, 1969; Volpina, 1992).

In the recent decades, research laboratories have been working on a different approach to the problem of synthetic vaccines. Its essence is in the fact that synthetic vaccines must carry on their macromolecules not only the determinate fragments of antigens, but, simultaneously, such a structure which can ensure production of antibodies to various antigens.

Such works were started in the 1970s by R. V. Petrov and R. M. Khaitov (1979), V. A. Kabanov and others (1982), and in the 90s by O. M. Volpina et al. (1992).

For actualization of immune correction they managed to start the development of complex antigens – such artificial macromolecular compounds which include both necessary antigen determinants and a stimulating (adjuvant) structure ensuring an immune response.

During the study of the action mechanism of synthetic polyelectrolytes on immunogenesis, it was established that carbon-chain polyelectrolytes – poly-4-vinylpyridine and polyacrylic acid (PVP, PAA), as well as polyoxidonium, stimulate proliferation and migration of hemopoietic stem cells, expansion of T-lymphocytes from the thymus and B-lymphocytes from the bone marrow into the peripheral lymphatic organs and cause a considerable increase in the output of the emerging antibody producers. (Petrov et al., 1984).

In the works of O. M. Volpina (1992) it was established that the synthetic complexes obtained by addition to polyelectrolyte carriers-adjuvants of a poorly immunogenic protein antigen ensure induction of an increased immune response to synthetic antigens.

M. A. Kokhnovich et al. (2010) conducted a comparative evaluation of the influence of different types of adjuvants, such as aluminium hydrate (AH), ISCOM and MontanideGel, on the antigen strength of the ERA-CB 20 M rabies vaccine, both in an experimental monovalent antirabies vaccine and in the composition of a multivalent vaccine. In small domestic animals, the maximum titer of antirabies antibodies (14.58 IU/ml) was observed when using the ISCOM adjuvant in the monovalent antirabies vaccine, while with ISCOM in the multivalent vaccine the antibody titer constituted 7.2 IU/ml.

I. I. Chernikova, O. S. Kashirina and Y. M. Vasiliev (2015) studied the immunogenicity of adjuvants of different nature and the action mechanism of inactivated flu vaccines. Added to the vaccine as adjuvants were aluminium hydrate, CpG oligonucleotide, complete Freund's adjuvant, microparticles of poly (lacdide-co-glycolide), monophosphoryl lipid A and polyoxidonium, as well as 2 adjuvants based on the specified substances of chitosan with different physical and chemical properties and 2 experimental complex preparations (multicomponent adjuvant and emulsion of the type of oil in water on the basis of squalen and tocopherol). It has been established that different adjuvants increase the vaccine immunogenicity against the homologous strain in a different way. The experimental complex preparations had the highest immunogenicity; the antibody titer increased by 48-96 times as compared to the vaccine without an adjuvant. High immunogenicity was noted for chitosan-based

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

adjuvants. Not all adjuvants increased immunogenicity significantly, and in some cases after their addition there was even some reduction of the antibody titer.

Thus, a polyelectrolyte and antigen introduced into a body, during the time of active interaction with blood components and lymphoid system, contribute to the formation of durable intercellular and intermolecular contacts, which results in strengthening the antigen-specific immune response.

To improve this approach to creation of a new adjuvant structure, a group of scientists from Saratov State University and Saratov State Vavilov Agrarian University managed to synthesize an adjuvant representing a complex of a synthetic polyelectrolyte.

RESULTS

The starting material for creation of polyazolidinammonium (PAA) modified with iodine hydrate-ions is polydiallyldimethylammonium chloride (PDDA). The polymer's structural formula is presented in Figure 1.

To enhance PDDA with new antimicrobial properties, chloride ions are replaced with halogen hydrate-ions, namely, in our case, with iodine hydrate-ions (IOH-). This modification is performed in alternating electric field under the influence of light with a certain wave-length (more exact modification parameters shall not be disclosed). According to the results of combinational scattering spectroscopy, no structural transformations in the polyelectrolyte molecule were registered.

It is necessary to add that, when being in a bound state in the polyelectrolyte molecule, the iodine hydrate-ions do not show any activity, which is testified by the absence of "the blue reaction" with starch.

It is assumed that in mixing the polyelectrolyte with antigenic substances a part of iodine ions disengages, and the antigen is bonded instead. The formation of the core-shell structures is most often conducted by the method of successive polyelectrolytes adsorption onto the surface of a solid core (Kabanov et al., 1982; Petrov et al., 1983). As core can any solid substance be used, which is insoluble in water and has the dimensions from a few microns to a few tens of nanometers. Most often, for core formation, substances with high biological activity or pharmaceutical preparations are used. Polyelectrolytes have low toxicity and high LD50 value, which is generally more than 3 g/kg.

It has been shown that the average size of the molecule constitutes 60-80 nm, and the value of electrokinetic potential is not lower than 35 mV. The obtained substance is characterized by high aggregative stability and does not flocculate for a long time.

So, using the method of molecular engineering, there has been synthesized a version of a polyvalent synthetic subunit which will be used as an adjuvant.

The preclinical trials of polyazolidinammonium conducted on laboratory animals with acute and chronicle toxicity and calculated LD50 showed absence of deviations of clinical and toxic parameters.

The intramuscular injection of the adjuvant during 5 days did not cause any changes in the animals' state, their hematologic parameters and condition of their inner organs (necropsy was performed).

Studies of local irritating and allergenic (sensitizing) effect of polyazolidinammonium were conducted during conjunctival and dermatic tests.

The visual assessment of the state of the conjunctiva, eye keratoderma and blepharon established that polyazolidinammonium modified with hydrate-ions does not cause irritation of the conjunctiva and does not produce any allergenic (sensitizing) effect on it.

The skin tests did not reveal any injury in the form of an erythema or edema. The application of the preparation did not cause a hyperemia, desquamation, allergic eczema or dermatitis.

Clinical blood analyses (hematologic, biochemical, etc.) are widely used as they help evaluate the work of inner organs (liver, kidneys, pancreas, gall bladder, etc.), obtain information on metabolism (of lipids, proteins, carbohydrates), establish the need for mineral nutrients and diagnose diseases.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

DISCUSSION

The studies of peripheral blood parameters testify to the fact that, independently of the way of the adjuvant administration, hematological indices correspond to the physiological norm for a given animal species. Our data agree with the normal hematological indices of CD (Sprague Dawley) rats' blood and CD 1 mice's blood, obtained by I. N. Kravchenko and others (2008); the biochemical values correspond to those received by I. V. Ananich, M. A. Derkho and T. A. Tkachuk (2008). Besides, no inflammatory or allergic processes were noted in the place of injection.

The research results showed that the polyelectrolyte is not mutagenic according to the results of AMES tests, not teratogenic (does not cause abnormalities and teratisms), NOEL = 25 mg/kg.

The tests conducted in the Research Institute of Veterinary Virology and Microbiology (Pokrov, Moscow Oblast) on inactivated rabies antigen in compliance with STOO 00495549-0020-2006 according to standard technical regulations showed high immunogenic activity in groups 3 (tested vaccine + polyethylsiloxane), 4 (reference-vaccine + polyethylsiloxane) and 5 (inactivated antigen without G0A + polyethylsiloxane), 1.82IU/cm3, 2.18IU/cm3, and 2.26IU/cm3, respectively.

The conducted pre-clinical tests prove a possibility of the adjuvant (polyelectrolyte) use in preparing test batches of vaccines.

CONCLUSIONS:

The prepared adjuvant showed promising results in the conducted tests. It was established that polyazolidinammonium modified with hydrate-ions (adjuvant – antigen-carrier) does not produce any local irritating effect. The conducted hematologic, biochemical research has not revealed any physiological deviations. No signs of allergenic (sensitizing) effect on the skin and conjunctiva were noted. High immunogenicity was established in the pre-clinical tests.

The positive results make it possible to consider that the prepared carrier-adjuvant will be harmless for animals.

A further study of the immunogenic properties of the developed vaccine is planned.

REFERENCES:

1. Ananich IV, Derkho M A, Kontsevaya SY (2008): Biochemical indices of rats' blood. Veterinarnaya Klinika 10, 35-37 (in Russian).

2. Aguilar J. C. Vaccine adjuvants revisited / J.C. Aguilar, E. G. Rodrıguez // Vaccine. – 2007. - № 25. - P.372.

3. Chernikova MI, Kashirina OS, Vasiliev YM (2015): Comparative study of immunogenicity of adjuvants of different nature and action mechanism on the model of inactivated flu vaccine. Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunologii 6, 63-67 (in Russian).

4. Derek T O'Hagan MF59 is a safe and potent vaccine adjuvant that enhances protection against influenza virus infection / Derek T O'Hagan // Expert Review of Vaccines,. – 2007. - Vol. 6, No. 5. – P. 699.

5. Edelman R. Vaccine Adjuvants //Rev. Infect. Dis.-1980 - Vol.2- P.383.

6. Kabanov VA, Petrov RV, Khaitov RM (1982): A new principle of synthetic immunogen creation. Zhurnal Vsesoyuznogo Khimicheskogo Obshchestva, 27, 57-68 (in Russian).

7. Kokhnovich MA, Gribencha SV, Mukhin AN, Seliverstov A, Verkhovskiy OA, Nepoklonova IV, Aliper TI (2010): Estimation of different adjuvants' influence on antigenic activity of rabies vaccine for small domestic animals. In: Materials of the 18th Moscow International Veterinary Congress on Diseases of Small Domestic Animals. Moscow (in Russian).

8. Kravchenko IN, Khokhlova ON, Kravchenko N N, Puzhalin A N, Diachenko IA, Murashev AN (2008): Hematological indices of free from pathological flora rats CD (Sprague Dawley) and mice CD1 n. Biomeditsina, 2, 20-31(in Russian).

9. Petrov RV, Khaitov RM (1979): Immune response to synthetic antigens. Dostizheniya Sovremennoi Biologii, 88(6), 307-321 (in Russian).

10. Petrov RV, Khaitov RM, Ataullakhanov RI (1983): Immunogenetics and synthetic antigens. Moscow: Meditsina (in Russian).

11. Petrov RV, Khaitov RM, Ataullakhanov RI (1984): Molecular mechanisms of activation

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

by oxitovpolyions. 1. Modification of transmembrane transport of cations. Biologicheskiye Membrany, 1(8), 599-604 (in Russian).

12. Petrov R.V., Kabanov V.A., Khaitov R.M. Immunology. 1986. No. 1. p.5.

13. Savina S.V., Ivashchenko S.V., Skornyakov V.M., Murtaeva V.S. The effect of synthetic adjuvant on the formation of the immune response. International research journal. 2016. № 8-2 (50). C. 42-44.

14. Savina S. V., Skornyakov V. M., Chastov A. A., Veselovsky S. Yu. Evaluation of reactogenic properties of chemical polyelectrolyte substance-adjuvant in experiment, International research journal. 2017. № 5-2 (59). C. 103-106.

15. Savina S.V., Skornyakov V.M. Study of the influence of chemical polyelectrolyte substance-adjuvant on embryotoxicity and teratogenicity of laboratory animals, Agricultural scientific journal. 2017. № 12. C. 48-50.

16. Schijns,V. Immunological concepts of vaccine adjuvant activity / V. Schijns. // Curr. Opin. Immunol. – 2000. – Vol. 12. – P. 456-463.

17. Vogel,F. R. Improving vaccine performance with adjuvants / F.R. Vogel. // Clin. Infect. Dis. – 2000. – Vol. 30. – Suppl. 3. – S. 266-S270.

18. Vogel, F.R. Adjuvants in perspective / F.R. Vogel // Dev. Biol. Stand. – 1998. – Vol. 92. – P. 241-248.

19. Volpina OM (1992): Theoretical and practical approaches to creation of a synthetic foot-mouth disease vaccine on the basis of synthetic peptides. Dissertation. Moscow (in Russian).

20. Vorobiev AA, Vasiliev AA (1969): Adjuvants. Moscow: Meditsina (in Russian).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

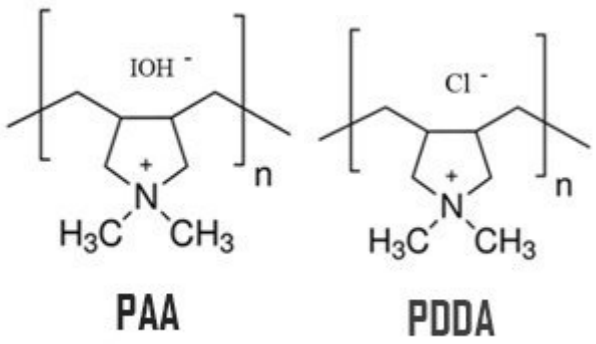


Fig. 1. Polyazolidinammonium (PAA) and polydiallyldimethylammonium chloride (PDDA) structural formulas

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ESTADO DA ARTE SOBRE TRAÇADORES APLICADOS NA AVALIAÇÃO DE FUGAS DE ÁGUA EM BARRAGENS

STATE OF ART ABOUT TRACERS APPLIED IN THE EVALUATION OF WATER LEAKS IN DAMS

PIMENTA, Rafael Colombo[1*]; BACELLAR, Luís de Almeida Prado[2]; RJEILLE, Milena Jorge[3]; MOREIRA, Rubens Martins[4].

[1,3,4] Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear, Serviço de Meio Ambiente, Av. Presidente Antônio Carlos, 6627, Campus da UFMG, Pampulha, CEP 31270-901, Belo Horizonte – MG, Brasil
(fone: +55 31 3069 3127; fax: +55 31 3069 3174)

[2] Universidade Federal de Ouro Preto, Núcleo de Geotecnia, Departamento de Geologia, Escola de Minas, Campus Morro do Cruzeiro, s/n, Bauxita CEP 35400-000, Ouro Preto – MG, Brasil
(fone: +55 31 3559 1600; fax: +55 31 3559 1600)

** Autor correspondente*
e-mail: colombopimenta@gmail.com

Received 05 October 2018; received in revised form 26 October 2018; accepted 27 October 2018

RESUMO

Barragens são elementos essenciais na infraestrutura e desenvolvimento de um país. Elas são construídas historicamente para armazenar a água, entretanto, atualmente, elas são concebidas para diversas finalidades, como irrigação, disponibilidade de energia, abastecimento de água, retenção de resíduos e controle de enchentes. Todas as barragens do mundo apresentam algum grau de vazamento, ocorrendo através da fundação, do contato com o terreno natural ou na própria barragem. Um dos principais causadores de rompimento de barragem é a erosão interna provocada pelos vazamentos. Traçadores podem ser utilizados no entendimento do fluxo de água na barragem, para que sejam realizadas medidas corretivas visando à diminuição de riscos. No presente estudo foi realizada pesquisa sobre o estado da arte da técnica dos traçadores aplicados às fugas de água em barragens. Foram usadas 78 referências em artigos, publicações e livros e, usando como critérios de inclusão todos os materiais com o tema envolvendo barragens e traçadores aplicados a elas. Este artigo mostra a importância da técnica dos traçadores na detecção precoce de vazamentos para que sejam tomadas providências que garantam a estabilidade da estrutura evitando desastres de danos incalculáveis às populações e ao meio ambiente.

Palavras-chave: *Vazamentos; reservatórios; hidrogeotecnia.*

ABSTRACT

Dams are essential elements in infrastructure and country's development. It are historically constructed to store water, however, today dams are built for various purposes, such as irrigation, energy availability, water supply, waste retention, and flood control. All the dams in the world show some degree of leakage, occurring through the foundation, in the contact with the natural terrain or through the dam. One of the main causes of dam rupture is the process of internal erosion caused by leaks. Tracers can be used to understand the water flow in the dam to perform corrective activities to reduce risks. The objective of the study was to research the state of the art of tracers techniques applied to water leakage in dams. We used 78 references, such articles, publications and books, using as inclusion criterion all the materials with the theme involving dams and tracers applied to it. This article reviews these techniques and shows their importance in the early detection of leaks, to realize correct interventions to ensure the stability of the structure, avoiding disasters with incalculable damage to populations and the environment.

Keywords: *Seepage; reservoir; hydrogeotechnical.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

As barragens e reservatórios têm um papel fundamental nos dias atuais, seja no armazenamento de água para o abastecimento das populações, irrigação, regularização de vazões, prevenção de enchentes, geração de energia elétrica, ou mesmo para a contenção de resíduos industriais e de mineração. Estes empreendimentos podem representar grande risco às populações e ao meio ambiente caso haja seu rompimento (CIGB, 2008).

Praticamente todos os reservatórios construídos no mundo apresentam algum problema de perda de água, e nem sempre é possível prever com precisão o comportamento hidráulico do corpo da barragem e das formações geológicas no seu entorno. Geralmente vazamentos e infiltrações em barragens são previstos no projeto, porém é difícil identificar os riscos associados e as consequências quando excessivos, pois estes podem gerar erosão interna na barragem (*piping*) e levar à instabilidade da estrutura caso não sejam tomadas as medidas corretivas necessárias (Bedmar e Araguás, 2002). Segundo Panvalkar e Chunade (2017), a detecção de fugas em barragens é um problema complexo concernente ao ramo da Engenharia Geotécnica, havendo várias incertezas relacionadas à caracterização do processo, como heterogeneidade das estruturas hidráulicas, isotropia e não linearidade dos materiais utilizados.

A existência de métodos confiáveis para a detecção de erosão interna é indispensável para antecipar problemas em barragens (Dornstädter e Heinemann, 2012) e a tecnologia dos traçadores pode ser utilizada nestes estudos de forma a confirmar a mistura entre águas, velocidades da água durante a percolação e a interconexão hidráulica existente (Bedmar e Araguás, 2002).

A Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA) vem promovendo nas últimas décadas o uso destas técnicas para contribuir na proteção das barragens e melhorar a sua gestão, realizando financiamento de equipes especializadas de cientistas e engenheiros para investigar a fuga de barragens em vários países. Algumas destas publicações merecem destaque, como Ibarra *et al.* (1979), Easey e Hanna (1987), Bedmar *et al.* (1999), Cordeiro e Plata (1999), IAEA (2001) e Dung *el al.* (2007).

Este artigo tem como objetivo a realização de uma pesquisa sobre o atual estado da arte da técnica dos traçadores aplicados ao estudo das fugas de água que ocorrem em barragens. Segundo Ferreira (2002), as pesquisas denominadas “estado da arte” ou “estado do conhecimento” são trabalhos de cunho bibliográfico que trazem o desafio de mapear e discutir a produção acadêmica e científica já realizada sobre um determinado tema para divulgação para a sociedade, facilitando o acesso a informações de diferentes fontes e enfoques, como na identificação de contradições e determinação de lacunas, de modo a se obter uma visão geral acerca do tema em estudo.

Pretende-se desta forma delimitar o tema dos traçadores aplicados ao estudo de barragens, esclarecendo, caracterizando e revelando as múltiplas perspectivas que têm sido usados por pesquisadores ao redor do mundo.

1.1 Problemas de Fugas em Barragens

Espera-se um pouco de fuga ou perda de água pelo corpo da barragem, de suas ombreiras ou da fundação (Wright, 1990; Bedmar e Araguás, 2002), e estas perdas devem ser monitoradas por toda a vida útil da estrutura até o seu fechamento (Bedmar e Araguás, 2002; ANA, 2015; Johnson, 1993). Isto porque, o fluxo de água pelo corpo da barragem pode resultar no desenvolvimento de erosão interna (*piping*), gerando cavidades pelo transporte de material e levar até mesmo a sua ruptura, se não forem tomadas medidas corretivas. A erosão interna é considerada o principal processo causador de rompimentos de barragens de terra envolvendo perdas de vidas e danos a propriedades (Bedmar e Araguás, 2002; Dornstädter e Heinemann, 2012; Wright, 1990; Johnson, 1993; FEMA, 2015).

De acordo com Deshpande e Panvalkar (2018), são muitas as causas dos vazamentos em barragens, dependendo do tipo construtivo destas estruturas. Em barragens de terra estas fugas podem ocorrer principalmente pelo aterro, fundação ou ombreiras, e serem causadas devido a problemas no filtro, má compactação, rachaduras, entre outros. Em barragens de concreto os vazamentos são causados devido a

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

falhas construtivas, dissolução do cimento, erosão, rachaduras entre outras causas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para se alcançar o objetivo proposto foi realizado um levantamento bibliográfico seletivo, restrito aos estudos publicados nesta área do conhecimento. Foram utilizadas pesquisas em fontes bibliográficas, como artigos científicos, manuais, informativos, teses e dissertações sobre o tema dos traçadores aplicados em estudos de fugas em barragens.

As bases de acesso de dados utilizadas para consultas dos artigos foram, principalmente, Portal de Periódicos da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), *Research Gate* e *Springer Link*. Nessas ferramentas de pesquisas foi possível encontrar diversos artigos, publicações de congressos e também capítulos de livros. Para tais pesquisas, foi usado como critério de inclusão todas as fontes que tratam o tema de traçadores aplicados à barragens, ou fazem menção à esta tecnologia. Todas publicações que possuíam o tema de interesse foram incluídos no dado estudo. Desta forma, para compor essa compilação do estado da arte foram usadas 78 referências bibliográficas, sendo a maioria delas, escritas na língua inglesa.

RESULTADOS

3.1 Definição, Abordagem, Classificação e Características dos Traçadores

Davis *et al.* (1985) tratam os traçadores como uma massa ou energia transportados pelas águas e que podem gerar informações sobre a direção do movimento e/ou a velocidade destas águas. Podem ser classificados como traçadores ambientais, ou seja, aqueles já presentes no ambiente, ou traçadores intencionais, quando injetados no sistema hidrológico com o objetivo de estudar as características deste sistema (Leibundgut *et al.*, 2009; Pimenta, 2016).

A abordagem convergente de sistemas de Leibundgut *et al.* (2009) pode ser aplicada ao estudo em barragens através de traçadores. Conforme a Figura 1, a entrada deste sistema é representada matematicamente pela infiltração/injeção de traçadores na área da barragem através de variáveis conhecidas em função do tempo, como volume, energia e concentração. O sistema da barragem processa as variáveis por meio do transporte dos traçadores e a decodificação destas variáveis na saída do sistema fornece indicações sobre os processos que governam o fluxo de água na barragem.

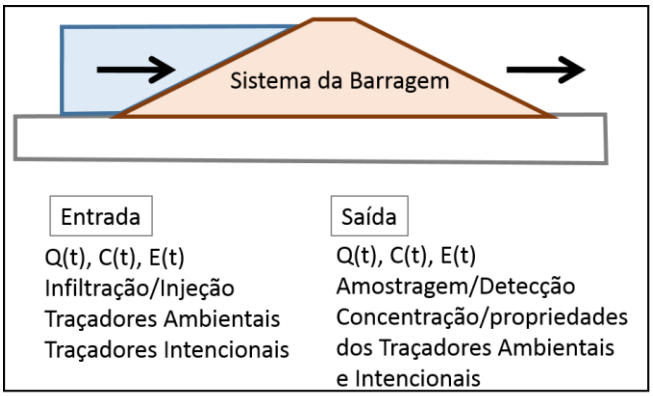


Figura 1. *Representação da abordagem de sistema para os traçadores aplicados em estudos de fluxo de água em barragens.*

3.2 Traçadores Ambientais

Entende-se por traçadores ambientais os componentes que estão presentes no ciclo hidrológico e que podem gerar informações sobre este ciclo. Estes traçadores podem ser isótopos estáveis, isótopos radioativos, parâmetros químicos e físico-químicos da água e, por vezes, poluentes de origem antrópica (Leibundgut *et al.,* 2009; Pimenta, 2016).

3.2.1 Parâmetros Físico-Químicos

3.2.1.1 Temperatura

A medição da temperatura da água tem sido usada desde 1950 para monitorar a infiltração de barragens por medidas manuais (FEMA, 2015). Dornstädter e Heinemann (2012) e Constantz *et al.*, (2008) concluíram que a temperatura da água é um ótimo traçador para investigação de fugas em barragens. Havendo uma diferença entre a temperatura da água em superfície e a subterrânea, a água superficial ao percolar a barragem irá provocar anomalias na temperatura, funcionando desta forma como um traçador, mesmo em velocidades extremamente baixas, podendo detectar o processo de erosão interna precocemente.

Os gradientes de temperatura ocorrem

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

permanentemente ou sazonalmente, formando flutuações de temperatura nas áreas prováveis onde ocorre a infiltração. A temperatura é transportada por meio da convecção e se propaga na barragem, alterando o campo de temperaturas típicas da água de percolação (Aufleger *et al.*, 2007).

As medições de temperatura começaram a ganhar maior aceitação nos anos de 1990 quando cabos de fibra ótica foram desenvolvidos para detectar mudanças térmicas ao longo do comprimento do cabo. De acordo com Aufleger *et al.* (2007), a medição da temperatura é uma ferramenta poderosa para detectar vazamentos em estruturas hidráulicas, existindo uma enorme potencial para a melhoria da eficácia desta técnica, que segundo o autor, será uma tecnologia chave no monitoramento de barragens no futuro.

Segundo Dornstädter (2013), existem três principais técnicas de medição da temperatura *in situ* nas barragens, que são: as sondas; os sensores de temperatura distribuídos com fibra ótica; e o método de pulso de calor (HPM). As sondas são utilizadas para medir a temperatura da água profundidades de até 40 metros e a técnica se baseia em tubos metálicos, contendo correntes de sensores de temperatura, acumulados no solo. As temperaturas medidas são imediatamente mapeadas e o espaçamento inicial das sondas pode ser reduzido nas regiões onde as anomalias de temperatura são detectadas.

Já a segunda técnica ocorre por meio do envio de um curto pulso de *laser* por uma fibra ótica, tornando possível a obtenção de um perfil de temperatura distribuído ao longo de toda essa fibra e com isso, determinar a zonas de infiltração na barragem. Esse sensoriamento permite medições de temperatura de alta resolução em uma extensão de até 30 km.

Por fim, o Método do Pulso de Calor foi desenvolvido para medir as condutividades térmicas locais e para estimar as velocidades da água infiltrada nas barragens. Ele baseia-se na geração de uma perturbação térmica do solo, representada por uma fonte de calor de linha, que pode ser realizada com fios elétricos. A partir de 1991, a fonte de calor da linha foi combinada com sondas de temperatura, em que os fios elétricos foram inseridos nos tubos metálicos. No momento em que a fonte de calor for ligada, as temperaturas dentro do dispositivo de medição subirão rapidamente e, no caso de condução térmica, elas aumentarão constantemente em uma escala de tempo logarítmica. Dessa forma, quanto maior a velocidade nos poros, maior será a dissipação de calor, e menor será a temperatura final detectada.

Dornstädter (2013) realizou um estudo na barragem Knezevo, localizada a leste da capital da Macedônia, Skopje. O autor utilizou da técnica do cabo de fibra ótica para detecção de vazamento na barragem. Foi possível observar que em dois locais das barragens há anomalias significativas de temperatura, que indicariam uma infiltração continua e prováveis pontos de vazamento da barragem. As características apresentadas sugeriram que as anomalias foram causadas pelo aumento do nível de água do reservatório.

A temperatura também foi usada como traçador no estudo feito por Johansson e Sjödahl (2004) na Noruega, na barragem de teste Røsvatn Field. As medições foram realizadas ao longo do pé da barragem usando 23 sensores de alta precisão (Greisinger PT100), a fim de estimar a mudança de temperatura e para detectar a vazão de escoamento pelo dique. Os autores encontraram quatro áreas de fugas significativas, entretanto as temperaturas medidas no pé da barragem não foram capazes de determinar exatamente em qual porção do núcleo o vazamento estava localizado, visto que estavam indicando a localização ao longo da barragem. Para ser possível ter certo conhecimento sobre o nível desses vazamentos, houve a alteração de algumas condições durante o enchimento, proporcionando essa estimativa da elevação do ponto de fuga.

Nygren (2013) estudou vazamentos em barragem de terra Ledinge na Suécia utilizando a temperatura como traçador. A medida da temperatura foi realizada por cabos de fibra ótica. Este autor apresentou e comparou três diferentes métodos computacionais de análise dos dados de temperatura registrados. Foi concluído que os métodos da Soma dos Senos e da Comparação das Inclinações são úteis para o registro de mudanças abruptas de temperatura, podendo desta forma serem utilizados como parâmetro indicador para o acionamento de alarmes para os responsáveis pelo monitoramento da barragem.

De acordo com Aufleger *et al.* (2007), a modelagem de fluxo tridimensional é uma das principais ferramentas a serem empregadas para a análise das medidas de temperatura

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

registradas em campo. As simulações realizadas por estes pesquisadores permitiram caracterizar o processo de propagação das anomalias térmicas e também identificar processos hidráulicos e parâmetros térmicos que participam do fenômeno. A Figura 2 apresenta uma seção extraída de um modelo de fluxo 3D pelo método de diferenças finitas. Pode-se observar distribuição de temperatura para condições normais de percolação, e uma comparação para a situação com vazamentos induzidos por fraturas na camada impermeável abaixo da barragem.

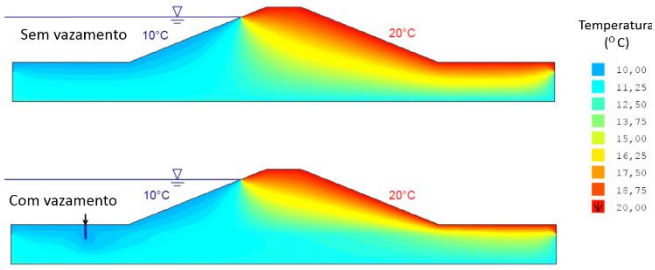


Figura 2. *Distribuição da temperatura em uma seção de um dique homogêneo. Simulação em modelo numérico realizado em Feflow para duas condições distintas. Modificado de Aufleger et al. (2007).*

3.2.1.2 Condutividade Elétrica

A condutividade elétrica (C.E.) é um traçador natural e sua medição pode gerar importantes informações na avaliação das fugas de barragens e reservatórios (Contreras e Hernández, 2010). É uma função direta dos íons dissolvidos na água (Appelo e Postma, 2006), fazendo com que diferentes meios imprimam nas águas subterrâneas sua característica química, de acordo com os minerais presentes nos aquíferos.

A C.E. é facilmente medida com um condutivímetro, e pode ser determinada na água do reservatório da barragem, ao longo de coluna de água em poços e em surgências de água à jusante do barramento. O acompanhamento da C.E. pode trazer indícios sobre a origem e mistura de diversas águas (Pimenta, 2016).

Assim como no caso da temperatura, os reservatórios de água desenvolvem uma estratificação salina, fazendo que as águas mais profundas tenham maior salinidade, e, portanto maior condutividade elétrica, do que as águas mais rasas (Contreras e Hérnandez, 2010).

Contreras e Hérnandez (2010) recomendam que a investigação de condutividade elétrica e temperatura sejam incluídas nas fases iniciais de todos os estudos de vazamentos em barragens. Estes autores indicam também o uso de sondas de termocondutividade que medem simultaneamente a temperatura e a condutividade elétrica da água, devendo ser incluídos nos planos de investigação perfis verticais de condutividade elétrica e temperatura no lago do reservatório. Na figura 3 é possível observar perfis desses dois parâmetros da barragem no Wyoming.

As medidas de condutividade elétrica da água podem variar muito durante as estações do ano, sendo comum a observação de menores condutividades elétricas durante a estação chuvosa devido ao maior aporte de águas do escoamento superficial, e maiores condutividades elétricas durante a estação seca do ano, devido a uma maior contribuição das águas subterrâneas para as águas do reservatório (Contreras e Hérnandez, 2010).

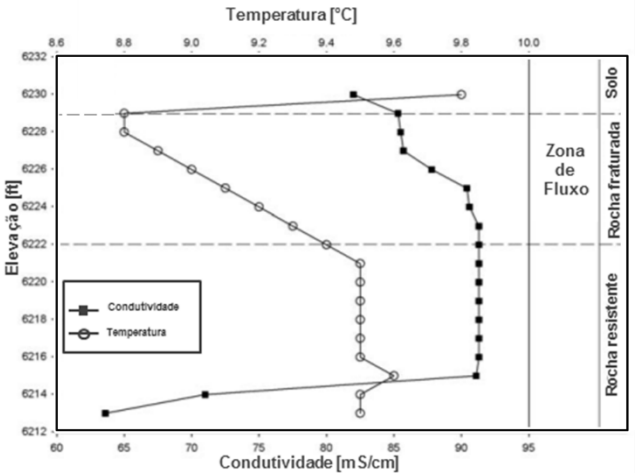


Figura 3. *Perfis de Condutividade Elétrica e de Temperatura em poço totalmente revestido em barragem no Wyoming. Modificado de Contreras e Hérnandez (2010).*

A medição de C.E. e de pH medidos *in situ* foi utilizada por Valencia *et al.* (2011) com o objetivo de complementar os resultados da injeção de traçador radioativo e verificar a interconexão entre as águas da barragem de rejeitos e a drenagem de fundo.

3.2.1.3 Hidroquímica

A análise da composição química da água é uma ferramenta muito útil na identificação da origem da água percolada, e pode ser usada

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

para classificar a água em diferentes fácies hidroquímicas, facilitando distinção das águas do reservatório com as do aquífero.

Craft (2005) estabeleceu os procedimentos para estudos dos vazamentos em barragens por meio da análise química da água. Este autor utilizou o termo química da infiltração para designar o conjunto de concentrações medidas dos constituintes químicos na água de infiltração. Craft (2005) destaca ainda que a avaliação da infiltração não é simples, podendo ter interferência de processos químicos concorrendo simultaneamente, como a dissolução mineral, misturas de águas durante a infiltração, existência de águas da etapa anterior à construção do barramento, demora na chegada da água do reservatório ao local de amostragem, ou mesmo processos biológicos, principalmente por microorganismos. A Figura 4 representa o perfil ilustrativo da mistura entre águas provenientes do reservatório com águas do aquífero.

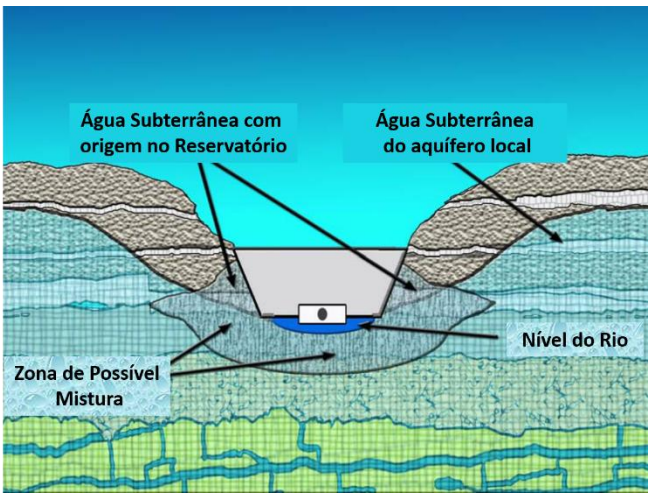


Figura 4. *Vista de seção esquemática de jusante para montante de uma barragem mostrando um cenário de mistura entre a água subterrânea proveniente do reservatório e a água subterrânea do aquífero. Modificado de Craft (2005).*

Em estudo sobre a proporção existente entre as águas do reservatório com águas subterrâneas presentes a jusante da barragem de rejeitos da mina Nickel Plate, no Canadá, Ghomshei e Allen (2000) utilizaram os sulfatos dissolvidos na água como um traçador indicativo do processo de infiltração atribuído ao eventual vazamento na barragem. O sulfato foi escolhido como traçador devido a sua alta concentração no reservatório, e por se comportar relativamente como um traçador conservativo, ou seja, não sofre reações ou retenções durante o fluxo, e por último, por estar presente em baixas concentrações nas águas receptoras. Os autores concluíram que a água analisada tem uma proporção entre águas naturais e de infiltração de cerca de 50%.

Variações qualitativas da água entre o reservatório e a água de infiltração podem ser visualizadas em diagramas hidroquímicos, como os de Piper, Stiff, e em Radar (Craft, 2005). Estes diagramas são simples e facilitam a visualização de vários parâmetros químicos simultaneamente, ajudando no reconhecimento de similaridade entre diferentes tipos de águas. A Figura 5 apresenta a separação de duas fácies hidrogeoquímicas utilizando o diagrama de Piper.

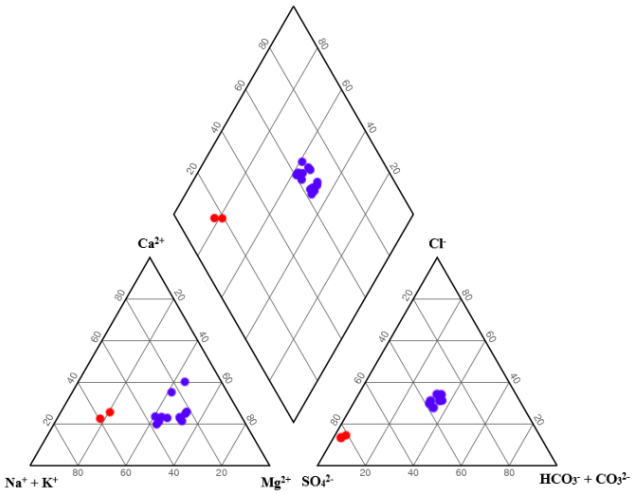


Figura 5. *Diagrama de Piper mostrando duas fácies hidrogeoquímicas (uma em azul e outra em vermelho) na ombreira esquerda da hidrelétrica de Xiaolangdi na China. Modificado de Fan et al. (2012).*

Quando os solutos tem maior concentração nas águas da infiltração, não significa necessariamente que esteja havendo uma dissolução de minerais durante o fluxo da água. Segundo Craft (2005) outros fatores também devem ser avaliados, como processos bacterianos, trocas iônicas em argilas e misturas de diferentes águas. Estes fatores devem ser levados em consideração antes de concluir precipitadamente que esteja havendo dissolução de minerais e formação de vazios.

Ao início do processo de fluxo em ambiente subterrâneo, a atividade microbiológica se dá de forma previsível seguindo diversas etapas através da transição do ambiente oxidante para o ambiente redutor:

a) Diminuição do Oxigênio Dissolvido

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

(OD) por bactérias aeróbicas que oxidam o carbono orgânico e reduzem o O_2 da solução. Os valores de Eh são sempre positivos enquanto houver OD;

b) Redução e denitrificação do nitrato (NO_3^-) através da respiração de bactérias como *Aeromonas, Enterobacter e Acaligenes* pela reação química:

$$NO_3^- + 0{,}5C_{orgânico} \rightarrow NO_2^- + 0{,}5H_2O + 0{,}5CO_2 \quad \text{(eq.1)}$$

A denitrificação ocorre em condições anaeróbicas como a *Paracoccus denitrificans.* Este processo reduz o nitrato por completo para o gás N_2, que pode voltar à atmosfera caso a infiltração esteja ocorrendo próximo à superfície. Valores típicos de Eh estão entre 0 e -100mV.

c) Redução dos oxihidratos de Ferro e Manganês pela respiração de bactérias *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Proteus,* em ambiente com depleção do oxigênio dissolvido e o do nitrato. Valores típicos de Eh entre -50mV e -200mV.

d) Redução do sulfato para gás sulfídrico (H_2S) pelas bactérias *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum* e *Desulfobacter.* Os valores de Eh variam de -200mV a -300mV, geralmente as condições mais severas de redução observadas em fugas de barragens.

e) Redução do CO_2 para metano por bactérias como *Methanobacterium* que utiliza o C do CO_2 e HCO_3 para produzir CH_4, em ambiente estritamente anaeróbico. Valores de Eh variam de -350mV a -450mV, condições redutoras severas raramente observadas em fugas de barragens.

Outro fator importante a se considerar é a troca iônica que pode ocorrer na superfície de argilominerais (Craft, 2005). Os argilominerais são aluminosilicatos formados por delgadas camadas mantidas unidas por íons como Ca, Mg, Na e K. Craft (2005) apresenta o exemplo da troca iônica entre a água contendo altas concentrações de Ca com relação ao Na. Neste caso, pode ocorrer a troca do Ca pelo Na no argilomineral montmorilonita sódica, aumentando a concentração de Na na água de infiltração e diminuindo a concentração do Ca.

3.2.1.4 Turbidez

Oliveira (2008) indica a turbidez nas águas como um parâmetro importante a ser verificado nas inspeções rotineiras em pequenas barragens. Segundo este autor o aumento na turbidez da água percolada pode estar relacionado a: abatimentos; recalques; erosões e trincas no maciço; ruptura cisalhante vertical da crista da barragem; fluxo sob uma barragem de concreto sem drenos; e depressões na crista.

Wright (1990) cita que entre outros fatores, o aumento da turbidez na água do vazamento do reservatório pode indicar risco as condições de segurança.

Em estudo realizado em uma barragem de terra no rio Kama, na Rússia, Maksimovich *et al.* (2016) concluíram que o índice de turbidez não é somente um traçador do processo de erosão interna, mas também um indicador da atividade microbiológica que ocorre no interior do barramento devido ao aporte de matéria orgânica no reservatório. Segundo estes autores, a existência de microrganismos pode alterar as propriedades físicas e mecânicas dos solos, causando efeitos negativos à estabilidade da estrutura.

3.2.2 Isótopos Estáveis

Os isótopos estáveis são usados para identificar águas de diferentes origens, padrões de fluxo, evolução geoquímica, interconexões hidráulicas e proporção entre misturas (Clark e Fritz, 1997). A análise destes traçadores em barragens irá mostrar um contraste isotópico entre as diferentes águas na área de estudo, como águas do reservatório, águas subterrâneas, e possíveis misturas em surgências a jusante da barragem (Bedmar e Araguás, 2002). Portanto, os isótopos estáveis desempenham um importante papel nos estudos de fugas de água em barragens (Ba *et al.* 2014).

3.2.2.1 Deutério e Oxigênio-18

Os isótopos estáveis ^2H (deutério) e ^{18}O, por fazerem parte da molécula de água, são considerados como traçadores ideais de águas,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

podendo identificar águas de diferentes fontes (Clark e Fritz, 1997). Durante o ciclo hidrológico a composição isotópica da água se altera nos diversos ambientes e processos a que é submetida. Este fracionamento ocorre durante a mudança de fase da água, ou durante reações químicas e é denominado fracionamento isotópico (Clark e Fritz, 1997).

Os isótopos estáveis ^{2}H e ^{18}O são reportados na forma da notação delta (δ), expressando os valores em relação a um padrão de referência, e geralmente expressos em ‰ (partes por mil), sendo um parâmetro adimensional (Clark e Fritz, 1997; Mook, 2000). A Equação 2 e 3 apresentam o cálculo para a determinação de δ. É aceito o padrão de referência VSMOW (*Vienna Standard Mean Ocean Water*), que está próxima da composição isotópica média da água do mar (Clark e Fritz, 1997; Mook, 2000; Santiago *et al.,* 2008). Craig (1961, *in* Clark e Fritz, 1997), propôs a reta meteórica mundial dada pela relação entre $\delta^{18}O$ e $\delta^{2}H$ as águas pluviais em diversos locais do globo. Nesta representação gráfica, apresentada na Figura 6, é possível observar as variações destes isótopos nas águas em vários compartimentos da hidrosfera em relação ao padrão VSMOW, tornando possível desta forma a identificação da origem de águas na investigação de infiltrações em barragens.

$$\delta^{18}O = \left(\frac{R}{Rr} - 1\right) x\ 1000\ ‰ \qquad \text{(eq. 2)}$$

$$\delta^{2}\mathrm{H} = \left(\frac{R}{Rr} - 1\right) x\ 1000\ ‰ \qquad \text{(eq. 3)}$$

Onde:

δ – Desvio da razão isotópica da amostra em relação a um padrão de referência;

R – Razão isotópica da amostra;

Rr – Razão isotópica do padrão de referência.

Para identificação das fontes de vazamento nas galerias de drenagem da barragem Tehri na Índia, Rai *et al.* (2012) utilizaram os isótopos estáveis ^{2}H e ^{18}O nas águas coletadas no reservatório, nascentes e nos pontos de vazamento. Concluiu-se que a água da infiltração é uma mistura entre as águas do reservatório com as águas subterrâneas, e que a proporção das águas do reservatório sobre as águas da infiltração é maior durante o período das monções onde o nível do reservatório é maior.

Dung *et al.* (2006) analisaram mensalmente o ^{2}H e o ^{18}O em alguns piezômetros e nas águas do reservatório de uma barragem no Vietnam. Foi confirmada a presença de águas provenientes do reservatório, de águas subterrâneas e também de águas percoladas pela barragem. Pela variação mensal destes parâmetros foi possível determinar os tempos de trânsito da água entre o reservatório e os pontos de observação. A Figura 6 apresenta os resultados das análises de $\delta^{2}H$ e $\delta^{18}O$ em comparação com a reta meteórica mundial (GMWL – *Global Meteoric Water Line*).

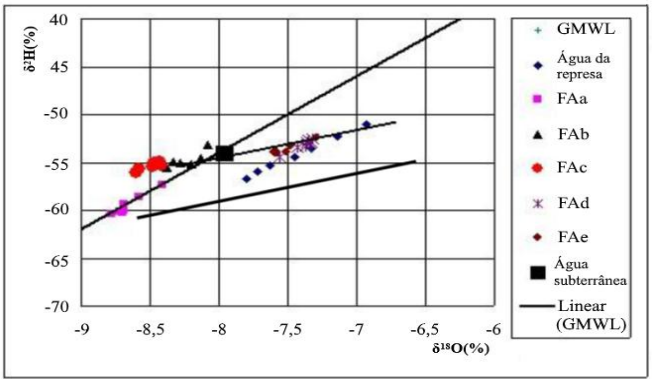


Figura 6. *Fracionamento isotópico das amostras de água em barragem. Notar semelhança da composição isotópica da água dos piezômetros FAd, FAe com as águas da represa e a semelhança entre as águas dos demais piezômetros com as águas pluviais e subterrâneas. Modificado de Dung et al. (2006).*

Peng e Wang (2008) empregaram isótopos estáveis para a verificação da causa e a origem da água de um vazamento anormal na barragem de terra zonada do reservatório de Xin-Shan localizado ao norte de Taiwan. A Figura 7 apresenta uma comparação para os isótopos estáveis entre as estações quentes e frias do ano. Nota-se que há diferenças na composição isotópica nas estações quentes e frias. Estas características indicam que durante o período chuvoso há maior depleção destes isótopos devido ao efeito da quantidade de chuvas. Estes resultados puderam ajudar a compreender o tempo de residência das águas pluviais no sistema da barragem.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

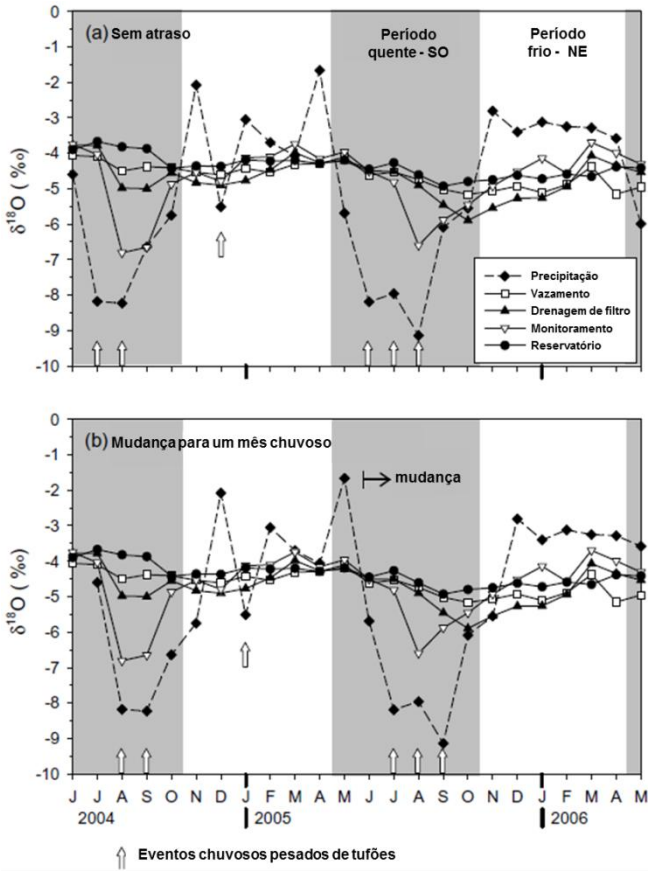


Figura 7. *Comparação entre as médias ponderadas das composições isotópicas e de precipitação durante um período de dois anos na barragem de Xin-Shan em Taiwan. Extraído de Peng e Wang (2008).*

3.2.2.2 Carbono-13

Segundo Bedmar *et al*. (1999), a razão isotópica $^{13}C/^{12}C$ no Carbono Inorgânico Dissolvido é utilizada com sucesso para investigar problemas de fugas em muitas barragens localizados em climas temperados e tropicais. A maioria das águas superficiais é caracterizada por um enriquecimento relativo da ^{13}C, desde que esteja em equilíbrio com a composição isotópica do CO_2 atmosférico. Por outro lado a água subterrânea é caracterizada por valores de ^{13}C mais negativos, resultando em um expressivo contraste isotópico entre os dois tipos de água.

O CO_2 dissolvido nas águas subterrâneas induz a dissolução do carbono do solo, visto que essa adição vai deslocar o pH para valores mais ácidos e com isso, aumenta-se a capacidade de dissolução dos carbonatos pelas águas subterrâneas. Após a reação ocorrida entre o carbono presente no solo, o CO_2 e água, o pH aumenta e o bicarbonato (HCO_3) e carbonato (CO_3^{-2}) passam a predominar nas espécies de Carbono Inorgânico Dissolvido (CID) (Bedmar e Araguás, 2002).

Uma das espécies isotópicas presentes no CID é o ^{13}C, sendo sua distribuição controlada pelo pH. Dessa forma, a partir das diferentes reações do CID, é possível determinar as razões isotópicas do ^{13}C, observando os enriquecimentos ou empobrecimentos da espécie no sistema.

Alguns estudos feitos para identificar a origem de nascentes emergentes em represas, na Costa Rica (Reservatório El Arenal), Cuba (Reservatório La Herradura) e Espanha (Reservatório Arquillo de San Blas), utilizaram da técnica de ^{13}C, medindo-se o $\delta^{13}C$ no CID. No geral, nos três estudos realizados, nas amostras dos pontos críticos em que ocorria vazamento, não foi verificada relação com a água dos reservatórios. Isso porque foi registrado que nas amostras coletadas nas proximidades da barragem são significativamente mais empobrecidas em $\delta^{13}C$ do que as observada nas águas do reservatório. Estes resultados provaram que as águas analisadas nos vazamentos não eram provenientes dos reservatórios das barragens (Cordero e Plata, 1999; Bedmar e Araguás, 2002).

Agudo *et al.* (2000) em estudo com a participação do Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear (CDTN), empregaram a técnica de isótopos estáveis na investigação dos possíveis vazamentos através da formação geológica na Represa de Tapacurá, próxima a cidade de Recife, Brasil. As amostras foram coletadas do reservatório e de vários pontos de coleta a jusante, sendo elas analisadas quanto às suas concentrações ^{13}C e também deutério e ^{18}O. A comparação entre os resultados dessas análises indicou que a água do reservatório e dos outros pontos de coleta era proveniente de origens distintas. Em relação, ao ^{13}C, os valores $\delta^{13}C$ encontrados estão apresentados na Figura 8. As amostras do Reservatório e da Galeria da Represa mostram um $\delta^{13}C$ logo abaixo do padrão para águas superficiais, pois está em equilíbrio com o CO_2 atmosférico. Enquanto que as outras amostras apresentaram valores muito menores. Esta é uma indicação de que o HCO_3 dissolvido nessas águas é de origem do solo, sendo, portanto provenientes de águas subterrâneas não provenientes do reservatório.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

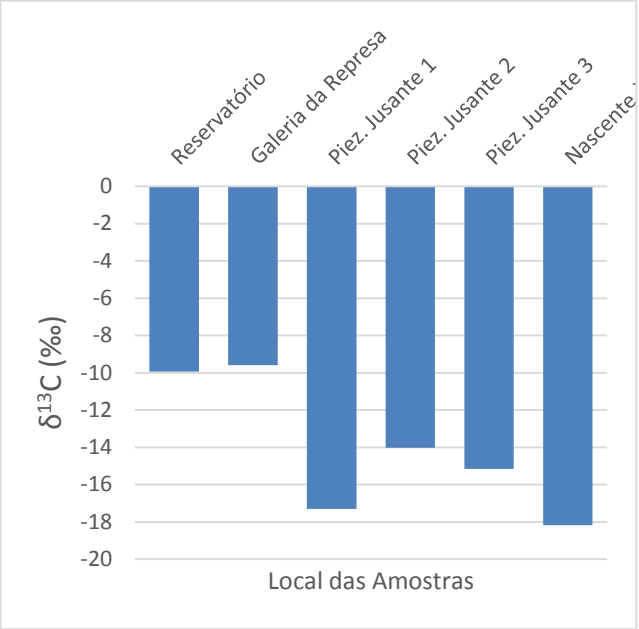


Figura 8. *Composição de $\delta^{13}C$ nas águas da represa de Tapacurá, Pernambuco, Brasil. Elaborado a partir de Agudo et al. (2000).*

3.2.3 Isótopos Radioativos Ambientais

3.2.3.1 Trítio

O trítio presente no meio ambiente é formado constantemente na alta atmosfera. Também foi gerado, principalmente, por testes nucleares realizados nas décadas de 1950 e 1960 (Noble, 2017). O uso do trítio como traçador no estudo de fugas em lagos e reservatórios pode ser similar em muitos casos aos isótopos estáveis (Bedmar e Araguás, 2002). De acordo com Monev (1999), o trítio é um excelente traçador para muitos problemas científicos ligados ao sistema hidrológico, e de acordo com Abiye e Shaduca (2017), este marcador é excepcional para determinação da escala de tempo das misturas e fluxo da água por fazer parte da molécula de água e comporta-se como ela, além de seu decaimento poder ser facilmente corrigido. Infelizmente, os teores atuais de trítio no Hemisfério Sul não permitem essas diferenciações.

Foi utilizado por Abiye e Shaduca (2017) no estudo da percolação de água em barragem de rejeitos de urânio como um indicador do tempo decorrido pelas águas subterrâneas desde a sua recarga. As águas de diferentes sistemas contêm conteúdo de trítio relacionado ao tempo de residência da água (ou idade da água) representativa de recarga recente. É útil no estudo de processos de fuga de barragens a consideração do fato de que as águas subterrâneas tem atividade de trítio menor do que as águas pluviais, podendo realizar desta forma a distinção entre estas águas.

Al-Gamal (2000) utilizou o trítio ambiental com um traçador natural para esclarecimento das relações entre a água do reservatório na barragem Al-Jumine na Tunísia. Devido a diferenças nas atividades de trítio nas águas subterrâneas e no reservatório, concluiu-se que a água da fuga é uma mistura entre as águas do reservatório e subterrâneas locais.

Ba *et al.* (2014) utilizaram o trítio como traçador para a verificação da procedência da recarga que origina a água do vazamento na barragem da estação hidrelétrica de Suzhi, localizada na província de Qinghai na China. Mediante a análise da Figura 9, os autores concluíram que a água do vazamento no ponto 3# tem atividade de trítio um pouco menor do que as águas do reservatório e as águas meteóricas, indicando que a fuga de água tem origem no reservatório com um tempo de residência relativamente curto. A água do vazamento no ponto 1# tem concentração de trítio muito menor do que as águas do reservatório e da precipitação, concluindo que esta água tem um tempo de residência mais longo, o que foi confirmado por isótopos estáveis.

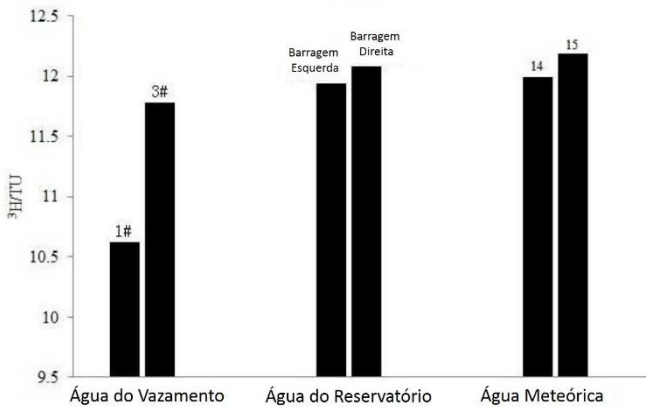


Figura 9. *Concentração de trítio ambiental das amostras coletadas na barragem da hidrelétrica de Suzhi na China. Notar semelhança entre águas do reservatório com águas meteóricas e diferença do ponto de vazamento 1# com estas águas. Modificado de Ba et al. (2014).*

3.2.3.2 Radônio-222

O radônio é um gás nobre gerado em subsuperfície pelo decaimento da família do

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Urânio-238 contido nos minerais. É ótimo traçador ambiental no estudo da interação entre águas subterrâneas e superficiais, pois existem diferenças na concentração deste gás entre águas de aquíferos, lagos e reservatórios e também cursos de água (Grolander, 2009; Da Silva *et al.*, 2009; Clark e Fritz, 1997, DeRubeis, 2013, Pimenta, 2016, Yi *et al.*, 2018).

Devido à característica de identificar interações entre as águas superficiais e subterrâneas, este traçador tem maior potencial de aplicação no reconhecimento de diferentes espécies de água em barragens. As águas no reservatório tiveram quase todo o radônio exalado para atmosfera, enquanto que águas do aquífero irão apresentar maiores atividades deste gás.

Yi *et al*. (2018) utilizaram o ^{222}Rn em conjunto com isótopos do oxigênio, hidrogênio, além dos principais ânions e da temperatura na barragem da hidrelétrica Pushile, na província Liaoning, na China, para estudo sobre a origem da águas de um vazamento. Os resultados apresentados pela análise da atividade do ^{222}Rn mostraram que as aguas do vazamento têm importante contribuição das águas do reservatório, o que foi confirmado pelos teores de ^{2}H e ^{18}O além dos ânions nitrato, sulfato e cloreto.

Entende-se que há um grande potencial do uso deste gás em estudos de fugas em barragens, há uma escassez de estudos mais detalhado sobre a utilização deste parâmetro, havendo ainda uma breve citação da AEA (2013) para a aplicação deste gás em caso de segurança barramentos.

3.2.3.3 Carbono-14

De acordo com Balderer *et al.*, (1988), a concentração de ^{14}C no carbono dissolvido, tanto o orgânico (COD) ou inorgânico (CID) das águas subterrâneas, é caracterizada pela história geoquímica da água e pelo decaimento radioativo de ^{14}C, determinado a partir do tempo de meia vida do mesmo. Se o histórico é conhecido, onde nenhum outro carbono foi adicionado, a sua concentração será mantida constante, a atividade do ^{14}C seria uma função apenas do tempo. Dessa forma, simples atividade pode ser usada para datação da idade das águas subterrâneas, ou seja, o tempo decorrido desde que a água se infiltrou no solo e tornou-se subterrânea.

Devido ao fato do carbono não ser um elemento intrínseco à molécula de água e ter sua função química complexa, são, normalmente, necessárias várias correções nas medições da atividade do ^{14}C, para eliminar efeitos de natureza físico-química, geoquímica, biológica, etc., que influenciam os valores detectados na natureza (Clark e Fritz, 1997).

Segundo Bedmar e Araguás (2002), apesar de não ser possível a identificação das águas de reservatórios a partir do ^{14}C, visto que as mesmas são recentes, é possível se utilizar da técnica desse traçador em casos onde as águas subterrâneas antigas podem ser encontradas no local da barragem devido à descarga de um aquífero local. Em situações como essa, a água antiga, que estava sendo descarregada ao longo do rio antes da construção da barragem, pode ser desviada para o local da barragem devido à barreira hidráulica formada pela água do reservatório, e dessa maneira, as antigas águas subterrâneas são forçadas a sair à jusante da barragem ou a fluir através dos pontos de fuga na área. Este foi o caso encontrado pelos autores nos reservatórios Giribaile e Bellús, na Espanha. Em ambos os casos, nascentes de água existiam em pontos próximos à barragem. A mesma água foi identificada em alguns furos dentro das galerias das barragens. As medidas de ^{14}C realizadas demonstraram que as águas emergentes tinham vários milhares de anos.

3.3 Traçadores Intencionais

São aquelas substâncias injetadas no meio hidrogeológico com o propósito de estudar o fluxo das águas subterrâneas. Estes traçadores podem ser isótopos radioativos, corantes fluorescentes, sais, produtos ativáveis, compostos quelantes e também organismos biológicos (Davis *et al*., 1980; Käss,1998; Schudel *et al*., 2002; Leibundgut *et al*., 2009; Pimenta, 2016).

Os traçadores intencionais devem apresentar algumas características que possibilitem a melhor aplicação da técnica. Algumas dessas propriedades são: os traçadores devem ser inertes, ou seja, não devem interagir com a fração sólida do solo ou reagirem com outras substancias; os traçadores devem ser atóxicos para o ser humano, animais, vegetais e

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

microrganismos, evitando possíveis contaminações em longo prazo; os traçadores devem ter baixo custo de aquisição e fácil manuseio; os traçadores devem permitir o uso em concentrações mais elevadas das concentrações dos mesmos constituintes naturalmente encontrados no meio estudado; os traçadores devem ser solúveis em água, além de se comportarem identicamente à água do sistema pesquisado; por fim os traçadores devem ter baixo limite de detecção, possibilitando que uma pequena fração de seja capaz de marcar grandes volumes de água. (Davis *et al*., 1985; Käss,1998; Schudel *et al*., 2002; Pimenta, 2016). Salienta-se que não existem traçadores que atendam todos os requisitos citados, mas as características de cada traçador devem ser consideradas durante a escolha e planejamento dos testes a serem realizados, dependendo dos objetivos do estudo e das características físicas do meio.

3.3.1 Corantes Fluorescentes

São substâncias orgânicas que emitem fluorescência quando excitadas em determinado comprimento de onda. Podem ser detectadas por fluorímetros *in situ* e são largamente utilizadas em todo o mundo como traçadores em estudos hidrológicos (Pimenta, 2016).

Sardinha e Mazzutti (2003) e Battaglia *et al.*, (2016) utilizaram os corantes fluorescentes para localizar zonas de infiltrações indesejadas em barragens para a caracterização do maciço, implantação e melhoria de cortina impermeabilizante de cimento.

Ünal *et al.* (2008) utilizaram traçadores fluorescentes aliado à hidroquímica, testes *pinhole* e Difratometria de Raios-X para verificar a procedência de argilas que aparecem juntamente com a água de jusante da barragem Armağan na Turquia. Os resultados sugeriram que as argilas são provenientes do preenchimento das descontinuidades presentes nos metacalcários presentes na fundação, havendo a necessidade de cimentação dos locais de fuga do preenchimento argiloso.

Os traçadores fluorescentes mais comuns são a Amidorodamina G, Fluoresceína (também conhecida como Uranina), Eosina, Piranina, Sulforodamina B, Rodamina WT, Rodamina B e Tinopal CBS-X. Estes traçadores podem ter a fluorescência reduzida devido à degradação causada pela presença de luz solar e acidez na água, e também podem ser adsorvidas por material de origem orgânica, diminuindo desta forma a sua detecção e restringindo sua aplicação (Aley, 2002 *in* Pimenta, 2016).

Al-Gamal (2000) realizou testes com traçadores fluorescentes aliados a isótopos ambientais, além de dados de piezômetros e drenos para determinar a possiblidade e a extensão de vazamento da barragem Al-Jumine na Tunísia, e sua interação com as águas subterrâneas a diferentes distancias do local da barragem. Foi demostrado que há vazamentos na barragem e que estas águas se misturam com a água subterrânea de maior salinidade, e que o vazamento propicia um risco potencial que ameaça a integridade da barragem.

Swaisgood *et al.* (2005), utilizaram três diferentes corantes fluorescentes para localizar a fonte do vazamento na barragem River Reservoir nas cabeceiras do rio Little Colorado, estado do Arizona, E.U.A.. Foi injetada a Rodamina na porção central da barragem, a eosina foi introduzida na porção à esquerda e a Floresceína foi injetada na porção à direita do ponto central. Em menos de 10 minutos após a injeção dos traçadores, a Rodamina foi detectada à jusante, confirmando os indícios de um sério problema de fuga de água na porção central da barragem.

Lee *et al.* (2007) realizaram testes com traçadores utilizando Rodamina WT e o íon Brometo para determinar possíveis padrões de infiltração e áreas potenciais de danos na barragem devido ao aparecimento de sinais de erosão interna. À partir das concentrações medidas, foi analisada a curva de chegada (*breakthough*) e assim inferidos os padrões de infiltração mais prováveis e o potencial dano à área da barragem. Amirhosseini (2011) apresentou estudo utilizando traçadores fluorescentes e ambientais na investigação da interação entre águas superficiais e águas subterrâneas para desta forma orientar o tratamento do vazamento de água da barragem de Havassan, no Iran.

3.3.2 Isótopos Radioativos

Os Isótopos Radioativos (também denominados radioisótopos) traçadores devem ter características que permitam acompanhar a dinâmica do sistema sem reagir quimicamente

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

com o meio ou ficar adsorvido no caminho, razão pela qual em muitos casos se deve utilizar mais de um traçador simultaneamente. Os traçadores radioativos emissores gama tem a vantagem de permitirem detecções diretas em campo e tem a de extinguir-se com o tempo, exceto pelo trítio que é emissor beta e sua determinação é realizada em laboratório. Segundo Pimenta (2016), isótopos radioativos tem a desvantagem de necessitarem de um Plano de Proteção Radiológica e de autorização para aquisição, transporte e manipulação junto a organismos reguladores, que no caso do Brasil a responsável por estes procedimentos é a Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN).

3.3.2.1 Trítio

O 3H artificial pode ser injetado em locais com suspeitas de vazamento a jusante da barragem para conferir obter a trajetória da água e mensurar a quantidade de vazamento. Rojas *et al.* (2004) e Valencia *et al.* (2011) realizaram estudos para medir a hidrodinâmica das infiltrações surgidas próxima a barragens de rejeitos de mineração no Peru. A Figura 10 apresenta os picos de chegada da nuvem de trítio que percolou pela geomembrana e foi detectada na saída do dreno de fundo da barragem de rejeitos (Valencia *et al.,* 2011).

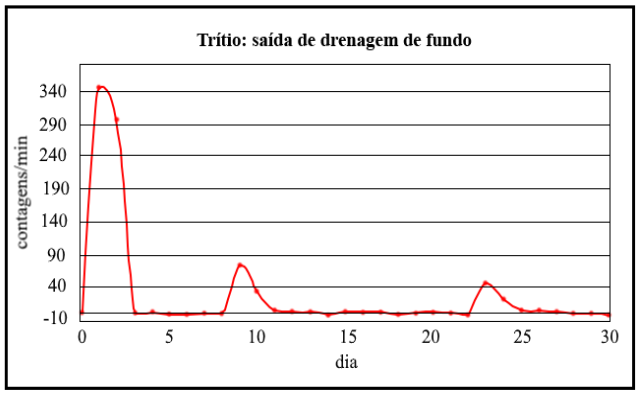


Figura 10. *Resultados da atividade de trítio no dreno de fundo da barragem de rejeitos. Modificado de Valencia et al. (2011).*

3.3.2.2 Iodo-131

Gómez *et al.* (1975) utilizaram o radiotraçador ^{131}I na forma de iodeto de sódio (NaI) para se medir a velocidade de percolação da água pelo dique Sumampa, na Argentina, e verificar se a permeabilidade real está ajustada com os valores projetados. A pesquisa destes autores concluiu que a velocidade da água no maciço da barragem está de acordo com os valores de referência da literatura e com os valores de projeto.

Com objetivo de mensurar a dimensão de infiltração e identificar possíveis zonas de anomalias na barragem Tri Na, na região sul do Vietnã, Hien e Khoi (1996) utilizaram da técnica de radioisótopos traçadores. Foi empregado no estudo ^{131}I em solução de iodeto de sódio para possibilitar o cálculo da permeabilidade da barragem e assim, comparar esse valor com o adquirido anteriormente ao início do projeto, por meio de pesquisas hidrogeológicas. Observaram-se valores de permeabilidade na ordem de uma a duas vezes maiores do que o esperado, o que indica a presença de infiltração no corpo da barragem após o represamento da água no reservatório. O processo de infiltração ao longo dos anos gerou o fenômeno de erosão interna que, por sua vez, provocou um aumento de poros internos. Entretanto, não foram observados zonas de vazamentos.

No Brasil foi produzida uma pesquisa pelo Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), São Paulo (Sanchez *et al*.,1975), com a finalidade de estudar a infiltração de água na barragem de Ilha Solteira, estabelecida no rio Paraná. Para isso o radioisótopo ^{131}I foi usado, tendo como justificativas que já havia um estudo anterior utilizando o radioisótopo ^{82}Br, e também o fato de que por possuir uma meia vida de 8,05 dias permitiria estender o experimento por um tempo maior que 30 dias e por permitir uma produção simples do isótopo. Foram aplicadas duas técnicas no estudo, uma que mensurou o tempo de chegada do traçador nos poços de bombeamento, sabendo-se se a distância entre os poços e o furo onde foi feita a injeção; e outra que, ao ocorrer uma redução da concentração do ^{131}I, devido ao escoamento da água, foi possível determinar a velocidade de trânsito da água. Desse modo, os resultados dos ensaios obtidos indicaram a presença de descontinuidades geotécnicas formadas pelo contato entre derrames basálticos que passam na região do furo de injeção e seguem até os poços situados na margem esquerda do rio Paraná, à jusante da barragem.

3.3.2.3 Ouro-198

O ^{198}Au é radioisótopo artificial que é

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

muito reativo com o solo, sendo fortemente absorvidos pelos materiais sólidos, e por isso, é utilizado unicamente para identificar os locais exatos onde ocorre a água é infiltrada. Dessa forma, é possível usar desse traçador para localizar os pontos de entrada de água nas barragens, sugerem Bedmar e Araguás (2002).

No estudo realizado por Wibagiyo *et al*. (1998), na barragem de Ngancar, estabelecida a aproximadamente 15 km a leste da cidade de Baturetno, Wonogiri, foi aplicado traçador ^{198}Au, na forma de $^{198}AuCl_3$ (Cloreto de ouro) para examinar vazamentos que poderiam estar ocorrendo na base do dique. O Cloreto de ouro por ser solúvel em água, ao ser injetado na água do reservatório, foi transportado pelo fluxo de água que seguem os canais de vazamento. Alguns dos traçadores foram absorvidos ao solo na parte inferior da barragem, especialmente ao redor dos canais de vazamento, e foram detectados por seus diferentes níveis de radiações. Foi elaborada uma enumeração desses níveis e assim, tornou-se possível a obtenção de um mapeamento com as linhas de contorno que ligam os mesmos valores de radiação por meio de interpolação. A partir da análise dos mapas de contorno de radiação tendo como base o padrão de dispersão dos traçadores, conclui-se que a área à direita do pé da barragem ocorre infiltração, ao contrário da área a esquerda do pé da barragem.

O traçador ^{198}Au foi aplicado na barragem de Pedu, no estado de Kedah, Malásia, em pesquisa feita por Easey e Hanna (1984), para rastrear os locais de infiltração. Em conjunto com o ^{198}Au na forma de HClAu (Ácido auriclorídrico), também foi usado o trítio na forma de água tritiada, sendo que o segundo seria para evidenciar a ligação entre os pontos em que a água estaria se infiltrando e as nascentes no entorno da barragem. Foi fabricado um dispositivo de injeção submerso para possibilitar a inserção dos traçadores a uma altura constante de 5m acima da geomembrana, e com base nos dados medidos, foram feitos os mapas a partir da qual áreas potenciais de infiltração foram identificadas. Verificou-se neste estudo que a infiltração indesejada estava ocorrendo no lado norte da barragem.

Ibarra *et al.* (1979) também utilizaram do Ácido auriclorídrico marcado com ^{198}Au para estudar as condições da barragem Las Lajas, local no México, a fim de identificar possíveis vazamentos de água. O ^{198}Au foi escolhido para esse estudo, principalmente, por sua característica de traçador não conservativo, ficando parte retido pelas partículas sólidas do solo; ter uma meia-vida curta, o que favorece a realização de um maior número de testes; e devido a sua maior energia de radiação gama, tornando sua detecção mais eficiente. Ele foi obtido em um reator nuclear, onde foi realizada a sua ativação por intermédio de um feixe de nêutrons incidindo sobre uma folha de ouro. O sistema de detecção da radiação emitida pelo ^{198}Au, nesse estudo, foi formado por três detectores conectados a três medidores com gráficos associados, sendo eles posicionados em um tubo fixado na popa de um barco, atingindo uma profundidade máxima de 15m. Os dados obtidos no campo foram processados para obter os mapas contendo as curvas de concentrações do traçador por diferentes tempos que mostram o movimento do ^{198}Au. Foram identificadas diversas zonas de vazamento de água, sendo as principais, as encontradas na ombreira direita da barragem, por possuírem os maiores vazões de fluxo.

3.3.2.4 Bromo-82

Iya *et al.* (1967), realizaram um estudo na barragem de Srisailam, localizada na Índia, onde foi utilizado o ^{82}Br na forma química de brometo de potássio a fim de detectar os reais caminhos de fluxos de infiltração, visto que já tinha se observado a ocorrência de vazamentos no reservatório. O ^{82}Br foi escolhido como traçador a ser utilizado por possuir propriedades adequadas para o propósito do estudo: possui alta energia gama emitida; alta solubilidade em água; não ser muito absorvido pelo solo; e por apresentar alta eficiência de detecção da sua radiação gama. Além disso, sua meia vida é muito curta e por isso, limita-se seu uso a casos de vazamento muito ativos já localizados. Dessa forma, foi possível apontar os pontos de entrada e saída da água, e as linhas de fluxo de infiltração. Ao realizar as observações *in situ* do traçador, após as injeções, obteve-se como resultado que o movimento de infiltração de água na barragem está localizado no lado esquerdo da mesma.

3.3.3 Sais (Traçadores Iônicos)

Os sais são traçadores intencionais que, ao serem dissolvidos em água, ficam eletricamente atraídos e formam os pares iônicos. Eles se relacionam diretamente com a

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

condutividade elétrica da solução, sendo que um aumento da concentração iônica gera um aumento da condutividade. Sais como os íons cloreto (Cl^-) e brometo (Br^-) são os mais utilizados na técnica, porém também podem ser utilizados outros sais em situações específicas (Pimenta, 2016).

De acordo com Contreras e Hérnandez (2010), o íon cloreto tem a vantagem de ser facilmente encontrado na forma de NaCl (sal de cozinha) e de possuir um comportamento próximo ao ideal ao que se espera de um traçador intencional. Além disso, ele pode ser injetado em qualquer massa de água. A principal limitação deste traçador diz a respeito do fato de que necessita de enormes quantidades de injeção, que inclusive podem acarretar correntes de densidade iniciais. Como o ^{82}Br, são usados quando o local do vazamento já foi identificado.

Como apresentado anteriormente, é possível relacionar a concentração dos traçadores salinos injetados com a condutividade elétrica da água. Uma forma de fazer essa relação é através da técnica de Potencial Espontâneo (SP), um método geofísico de investigação.

A técnica de SP tem sido utilizada por diferentes autores há várias décadas para o estudo de vazamentos em barragens, visto que esta técnica visa localizar os fluxos de águas subterrâneas mediante a medição dos diferentes potenciais elétricos gerados nas superfícies. O método se baseia no fato de que a água subterrânea ao ser escoada pelos diversos condutos do solo pode gerar diferenças de potencial, sendo resultado de uma interação entre a água e o material sólido. Essas diferenças são proporcionais à velocidade e a vazão do fluxo da água, fazendo o potencial elétrico aumentar ao longo da direção do fluxo (Bedmar e Araguás, 2002).

Ao injetar um traçador salino a montante de uma barragem é possível alterar a condutividade elétrica da solução, tendo como consequência a diminuição dos sinais do potencial elétrico que estão relacionados com o fluxo da água. A variação desse sinal pode ser medida a partir dos eletrodos presentes na superfície, tendo como o esperado uma variação positiva em relação ao estado inicial antes da injeção do traçador salino. Com este método é possível localizar o fluxo de água do interior da barragem, determinando o caminho preferencial, por meio da variação, no espaço e no tempo, dos sinais de potencial resultantes do transporte da água subterrânea que contém o sal (Bolève *et al.,* 2011).

Em estudo realizado no sul da França por Bolève *et al.* (2011), já com um vazamento comprovado, localizou-se a área onde este se encontrava através de um mapeamento do potencial espontâneo e, quantificou-se a taxa de fluxo de vazamento, com o cálculo da permeabilidade. O vazamento se encontrava no ângulo sul do reservatório, e devido à presença de fendas foi possível notar, a partir do mapeamento do SP, uma redução significativa do sinal de potencial eléctrico, resultado condizente com o esperado de fugas de barragem. Realizaram-se duas injeções de traçadores salinos e foi possível notar dois picos anômalos com variação positiva do sinal (Figura 11). Por fim, a partir da diferença de tempo entre as injeções de solução salina e a ocorrência do pico, além da distância entre a injeção e os elétrodos, foi feita uma estimativa da permeabilidade, obtendo um valor de (10 ± 5) x 1010 m^2.

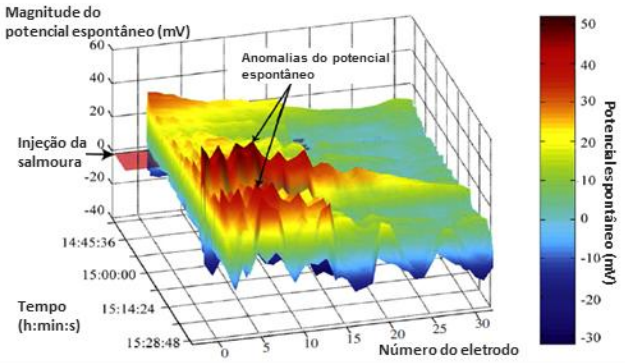


Figura 11. *Variação temporal dos dados de potencial na crista da barragem. Os dois picos positivos estão relacionados com a injeção do sal, aparecendo nos eletrodos 1 a 16. Modificado de Bolève et al.(2011).*

3.4 Técnicas de Investigação

Existem várias técnicas de investigação das fugas em barragens, e os traçadores representam um método direto e confirmatório, e os seus resultados não podem ser alcançados por outros métodos (Käss, 1998).

O primeiro passo para estes estudos é a obtenção de informações geológicas, geotécnicas e hidrogeológicas da área de estudo (Deshpande e Panvalkar, 2018). Estas informações básicas irão guiar o estabelecimento das hipóteses iniciais de investigação.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Os estudos devem combinar o uso de diversas técnicas (Bedmar e Araguás, 2002), como investigações geológico-geotécnicas, inspeções visuais, instrumentação na barragem, levantamentos geofísicos terrestres (métodos elétricos), perfilagem de poços, monitoramentos topográficos, hidrometria, modelagem matemática, etc.

Nos estudos utilizando traçadores ambientais devem ser realizadas campanhas de amostragens de água para análise laboratorial nos pontos mais importantes, como águas do reservatório, poços e piezômetros, surgências, e outros pontos de água disponíveis. Também é indicada a análise de águas pluviais do local. Durante estas campanhas devem ser medidos *in situ* os parâmetros físico-químicos pH, Condutividade Elétrica, Eh, Temperatura, Turbidez, usando medidores multi-parâmetros ou outros específicos para cada medição.

De acordo com o manual da FEMA (2015), os testes com traçadores intencionais podem ser utilizados na investigação dos padrões de fuga na fundação, ombreiras ou no próprio maciço da barragem. Estes testes têm como proposta inicial a confirmação da existência de conexões hidráulicas entre o ponto de injeção e o de detecção, e desta forma, sabendo-se a distância entre estes dois pontos, tem-se a velocidade do fluxo entre estes pontos.

Os estudos realizados por Pimenta e Moreira (2018) na mina abandonada Engenho D'água, localizada em Rio Acima, Minas Gerais, Brasil, utilizaram dessas diversas técnicas de investigação, a fim de caracterizar o local de estudo e compreender o escoamento que vem ocorrendo nas geomembranas e processos de percolação da água contaminada nas barragens de rejeitos. Realizados pelo Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear (CDTN), foi realizada preliminarmente caracterização geológica e geotécnica, usando dados secundários acrescentados com informações recolhidas no campo, auxiliando nas etapas de investigação com traçadores ambientais hidroquímicos.

Nasseh *et al.* (2013) enfatizam a importância do planejamento dos pontos de injeção e amostragem em todos os projetos envolvendo uso de traçadores. Os traçadores podem ser injetados em furos de sonda, poços de monitoramento, ou em locais específicos dentro do reservatório (Figura 12). A fuga de água é detectada à jusante da barragem em poços, surgências e em cursos d'água com o uso de equipamentos de detecção apropriados para cada tipo de traçador. Na figura 12, em 'A', o traçador é injetado na superfície do reservatório e amostrado nos poços localizados na barragem e à jusante. Já em "B" o traçador é injetado em um poço localizado sobre a barragem e detectado nos pontos de amostragem à jusante. E em "C" o traçador é injetado no fundo do reservatório próximo do pé de montante e é detectado à jusante da barragem.

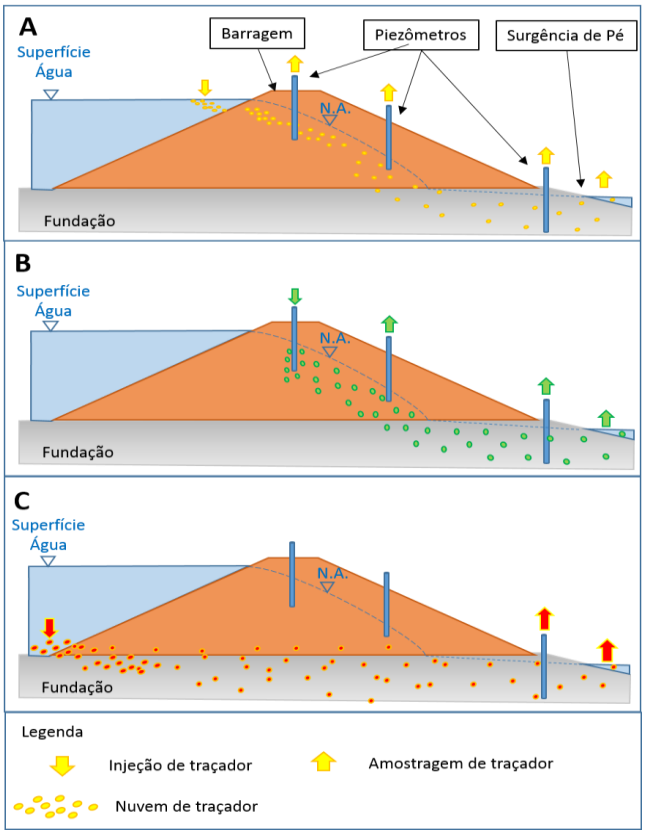


Figura 12. *Alguns tipos de teste com traçadores em barragens de terra.*

Os testes de fluxo horizontal e vertical em poço único (em inglês, *single well test*) também são bastante utilizados, havendo vários estudos de caso compilados por Bedmar e Araguás (2002). Trata-se da marcação da coluna de água do poço por um traçador por uma mangueira e posterior execução de perfilagens para medição da concentração do traçador pela coluna de água do poço (Figura 13). A comparação entre os diversos perfis de concentração no decorrer do tempo, indicam zonas de entrada e saída de água do poço, sendo possível também a determinação da velocidade da água nestes trechos por meio de cálculos matemáticos, como apresentado por Pimenta, (2016); Bedmar e

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Araguás (2002), e por Jiansheng e Haizhou (2001) que realizaram o teste em poço único na ombreira esquerda da barragem de Liujiaxia na China.

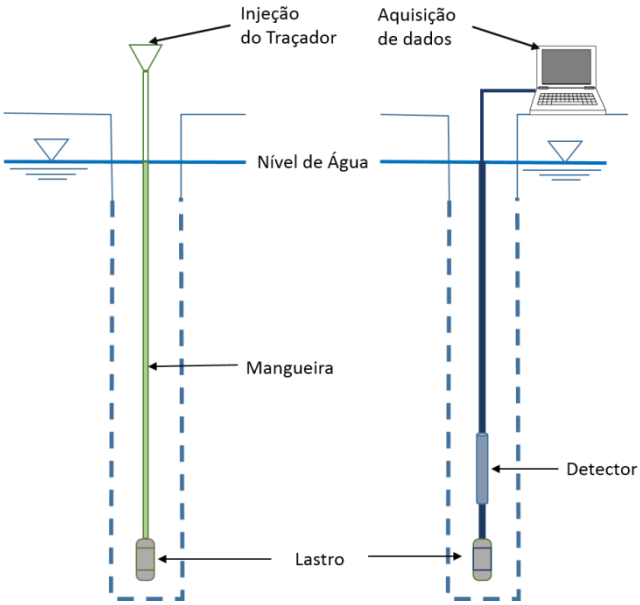


Figura 13. *Marcação da coluna de água do poço utilizando mangueira para inserir o traçador e detecção da concentração de traçador através de perfilagens em sucessivos intervalos de tempo.*

Noble *et al.* (2017) realizou estudos utilizando traçadores ambientais, (parâmetros físico-quimicos, análise química e os isótopos ambientais, ^{2}H, ^{18}O, ^{3}H) em conjunto com dados de medições hidrométricas (níveis de água, vazões) para verificar a procedência da água de surgência no pé da ombreira esquerda da barragem de terra Gollaleru, na Índia. Estes autores concluíram que a água da surgência é proveniente do reservatório em mistura com a água subterrânea local.

No estudo sobre a infiltração de águas contaminadas de uma barragem de rejeitos de mina de urânio na Namíbia, Abiye e Shaduka (2017) realizaram estudos envolvendo a análise hidroquímica (C.E., pH, O.R.P. e temperatura), isótopos estáveis (^{2}H e ^{18}O) e o trítio ambiental. Foram registradas águas com pH alcalino e alta condutividade elétrica (comparada com águas não poluídas). Neste caso, os parâmetros físico-químicos funcionaram com traçadores das águas poluídas por urânio provenientes da barragem de rejeitos.

Estudo envolvendo os traçadores ambientais integrados com intencionais foi realizado no trabalho de Zhongcheng *et al.* (2009). Estes discutiram os princípios de uma abordagem conjunta entre vários traçadores usados na detecção de fugas utilizando os traçadores deutério, ^{18}O, trítio e ^{131}I combinados com parâmetros físico-químicos medidos *in situ* como Condutividade Elétrica (C.E.), Temperatura (T), Ca^{2+}, Cl^{-}, Sólidos Totais Dissolvidos (S.T.D.). Hocini e Mami (2011) combinaram o uso de diversos traçadores para investigar a infiltração de barragem Beni-Haroun na Algeria. Alikaj *et al.* (2016) realizaram estudo na barragem de Komani na Albânia, envolvendo uma investigação geofísica em conjunto com análise hidroquímica e de isótopos estáveis para determinar a infiltração que ocorre na barragem.

3.5 Remediação

Peng e Wang (2008) destacam que a ignorância sobre os processos existentes em vazamento indesejados em barragem pode resultar em desastres de danos imprevisíveis, e estes sugerem que sejam tomadas as medidas remediadoras.

Jiansheng e Haizhou (2001) destacam a importância do método dos traçadores como ferramenta na investigação de vazamentos em barragens, e enfatizam que estas investigações são necessárias para se ter um conhecimento prévio antes de serem tomadas as medidas corretivas necessárias.

Para Noble *et al.* (2017), as atividades de remediação são de alto custo para as companhias gestoras, e podem ser executadas sem o devido conhecimento sobre a natureza dos fenômenos envolvidos no processo de fuga de água. Deshpande e Panvalkar (2018) indicam que para garantir a segurança de uma barragem se faz essencial à identificação com o máximo de precisão as possíveis áreas de perda de água e os pontos de entrada nas estruturas condutoras de água.

Com base nos resultados obtidos por testes com traçadores fluorescentes, Turkmen (2003) pôde realizar a cimentação em locais de maior velocidade das águas subterrâneas, e também comparar as velocidades após o processo de impermeabilização com injeção de cimento (*grouting*) em barragem na Turquia.

A Tabela 1 apresenta uma comparação entre as velocidades medidas com corantes fluorescentes após as operações de injeção de cimento para implantação de cortina

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

impermeabilizante (Turkmen, 2003).

Tabela 1. *Velocidades da água subterrânea determinadas utilizando traçadores fluorescentes após as operações de cimentação (grouting) em barragem na Turquia. Modificado de Turkmen (2003).*

Locais de observação	Velocidade após a construção da cortina de cimento em 1988 (m/h)	Velocidade após a segunda cimentação em 1990 (m/h)
K-1	6	4,5
K-2	6	4,5
K-3	5,5	3,6

Dentro desta perspectiva de testar a eficiência da cortina impermeabilizante (*grount courtain*) na barragem de Bidvaz no Iran, Nasseh *et al.* (2013) utilizou os corantes fluorescentes Rodamina B e Fluoresceína como traçadores. A Rodamina B foi detectada no ponto de surgência no pé da barragem, confirmando a conexão hidráulica entre os dois pontos e calculada uma velocidade de 28,6 m/h e indicando um fluxo subterrâneo turbulento ao longo das rochas calcárias presentes na ombreira esquerda da barragem, apontando para a ineficiência da cortina impermeabilizante naquela porção. A Fluoresceína não foi detectada entre o ponto de amostragem e de detecção, demonstrando a eficiência da cortina impermeabilizante naquela porção. Mediante a estes testes o autor sugere que a cortina impermeabilizante seja prolongada até a porção onde foram detectados os vazamentos.

3.6 Técnicas Complementares

No estudo utilizando traçadores, Noble *et al.* (2017) enfatizam a necessidade de uso de técnicas multidisciplinares na investigação dos vazamentos em barragens. (a) Hidrometria, (b) Métodos Geofísicos, (c) Traçadores Ambientais; (d) Traçadores Intencionais; e (e) Modelamento Numérico.

Nas investigações sobre a hidroquímica das infiltrações, Craft (2005) recomenda a interdisciplinaridade e a integração de informações de diversos campos, como a química analítica, geoquímica, hidrologia, geofísica, engenharia civil e geotécnica.

Petitta *et al.* (2010) utilizaram isótopos estáveis da água para a confirmação do modelo conceitual concebido a partir de dados levantados de piezometria, medições de descarga, testes de bombeamento e de análises químicas realizados em uma barragem formada por um fluxo de detritos após o escorregamento de talude. A assinatura isotópica da água confirmou com exatidão os resultados no modelo conceitual de fluxo, estabelecendo a interação entre as águas superficiais e subterrâneas por meio da barragem de escorregamento.

3.6.1 Geofísica

Além da utilização do Potencial Espontaneo (SP) em conjunto com a injeção de traçador salino (Bolève *et al*., 2011) citado no ítem 4.2.3, outros métodos geofísicos merecem destaque, principalmente a perfilagem geofísica e a Tomografia por Resistividade.

A perfilagem geofísica em poços foi utilizada por Deschpande e Panvalkar (2018) em conjunto com traçadores nas barragens de Pune e Bhama-Askhed, na Índia. Estes autores mencionam a perfilagem geofísica como uma ferramenta que vem sendo cada vez mais utilizada no mundo para delimitação de zonas de maior permeabilidade. Esta técnica apresenta um baixo custo na identificação de zonas susceptíveis de infiltração, e atua como um complemento às demais técnicas de verificação. Os perfis podem ser executados furos de sondagem e poços, mesmo aqueles revestidos por tubos de metal ou plástico. Os *logs* dos poços podem ser interpretados para a determinação da litologia, resistividade, densidade, porosidades, teor de umidade entre outros. A Tabela 2 apresenta os métodos de perfilagem geofísica e os parâmetros medidos por cada método.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 2. *Métodos na perfilagem de poços (Extraído de Deschpande e Panvalkar, 2018).*

Método da Perfilagem	Parâmetros Medidos
Resistividade	Resistividade Elétrica
Polarização Espontânea	Potencial Elétrico
Raio Gama Natural	Radiação Gama Natural
Raio Gama-Gama	Densidade Aparente
Neurônico	Porosidade
Sônico	Propriedades Mecânicas
Temperatura	Temperatura do Fluido
Caliper	Diâmetro do Furo

A tomografia por Resistividade foi utilizada por Zhao *et al.* (2011) em modelos reduzidos de barragens como comparação e confirmação dos resultados de testes com traçadores. Estes autores concluíram que o método da tomografia de resistividade tem maior precisão do que o método dos traçadores na identificação dos locais de percolação de água.

3.6.2 Ferramentas Computacionais

Os códigos computacionais representam uma ferramenta poderosa na análise e interpretação dos resultados obtidos pelos traçadores ambientais.

3.6.2.1 Modelagem de Fluxo

O software MODFLOW (Hughes *et al*. 2017; Langevin *et al*., 2017) foi utilizado por Craft (1992, *in* Craft, 2005) para o estudo da infiltração na barragem Glen Canyon, Colorado, E.U.A.. Este foi capaz de programar um modelo de fluxo tridimensional da água subterrânea, e revelou no estudo da barragem Glen Canyon que a água da infiltração flui horizontalmente no entorno da barragem, tendo sido considerado um tempo de residência da água estimado de 6 meses. Os diversos traçadores podem ser aplicados de forma a confirmar os resultados obtidos por modelos numéricos de fluxo e transporte de contaminantes, como também para a calibração destes modelos computacionais.

3.6.2.2 Modelagem Hidroquímica

Os diagramas hidroquímicos de Piper, Stiff, entre outros, podem ser feitos pelo software AcquaChem (Waterloo Hydrogeologic, 2017), ou o software livre brasileiro Qualigraf (Möbus, 2014).

O software NETPATH (Plummer, *et al.*, 1994) pode ser utilizado para auxiliar na verificação no caso das características hidroquímicas da infiltração serem o resultado da mistura da água do reservatório com a água do aquífero local (Craft, 2005).

Craft (2005) cita como ferramenta essencial na interpretação hidrogeoquímica dos dados químicos do vazamento os programas computacionais como WATEQ4F, MINTEQA2 e o PHREEQE. Estes softwares são utilizados para realização do cálculo dos Índices de Saturação Mineral (ISM) para cada amostra coletada. Estes códigos são utilizados para a modelagem hidroquímica usando métodos numéricos baseados nas concentrações medidas nas amostras e nos banco de dados das possíveis reações químicas esperadas que ocorram nas águas. Um dos resultados mais úteis destes modelos na avaliação das infiltrações é o cálculo do ISM para os minerais solúveis mais comuns. Geralmente o ISM é dado na notação “Log (AP/KT)”. Quando o ISM é negativo, significa que a água está insaturada dos constituintes deste mineral, havendo a tendência para a dissolução deste. Por outro lado, quando o valor de ISM é positivo, significa que a água está saturada nos constituintes deste mineral e que a tendência é que estes constituintes se precipitem. Estes resultados são importantes para a comparação entre as águas do reservatório e as possíveis águas de infiltração à jusante. Quando o ISM aumenta entre estes pontos, sugere-se que esteja havendo uma possível dissolução de minerais durante o fluxo, ou a mistura com águas mais concentradas. E uma diminuição do ISM entre as águas do reservatório e águas de jusante, sugerem a precipitação de minerais durante o fluxo, ou mesmo a mistura com águas menos concentradas.

Na mina do Engenho D’água, Pimenta e Moreira (2018) realizaram a modelagem hidroquímica com objetivo de entender melhor os processos químicos que ocorrem no interior das barragens de rejeitos. A modelagem foi feita com o uso do software PHREEQC, usando, dando-se maior ênfase ao contaminante arsênio. Essa ferramenta de modelagem mostrou-se eficiente, visto que com ela foi possível notar a existência

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

de uma mistura das águas mais concentradas de arsênio com águas subterrâneas naturais contaminadas menos concentradas à jusante do barramento, indicando uma possível fuga de solutos através das geomembranas das barragens.

3.6.2.3 Modelagem Estatística

A análise por métodos estatísticos multivariados como Análise Discriminante, Análise de Agrupamentos, ou por Componentes Principais, são segundo Craft (2005) ferramentas robustas para classificar as amostras de acordo com os múltiplos parâmetros detectados. Podem-se utilizar os programas SPPS, SAS, MINITAB entre outros.

Peng e Wang (2008) utilizaram o software SPSS para Windows para realizar uma análise estatística por Regressão Linear Múltipla dos dados levantados. Essa abordagem classificou as variáveis independentes significativas que afetam a variável dependente (drenagem do filtro da barragem). Foi utilizada a Correlação de Coeficientes de Pearson para verificação da relação entre a drenagem nos filtros da barragem com outras variáveis como a precipitação e o nível do reservatório nas diferentes estações do ano.

Pimenta e Moreira (2018) empregaram o a técnica da estatística multivariada utilizado o software MINITAB. A partir da Análise de Grupamentos (clusters) foram definidos grupos com similaridades. Para esta modelagem foram utilizados os parâmetros químicos e físico-químicos relacionados à campanha de amostragem, tonando-se possível à construção de dendrogramas, para análise dos dados. Os resultados obtidos revelaram grupos de similaridade entre amostras individuais, separando águas não contaminadas das águas contaminadas relativas à barragem B2, e o agrupamento dos traçadores hidroquímicos revelaram similaridades entre o arsénio, o ferro, o manganês e o potencial redox.

CONCLUSÕES

A utilização de traçadores ambientais e intencionais mostrou ser de grande aplicabilidade no estudo de fugas de barragens e reservatórios. Trabalhos publicados em diversas partes do mundo mostraram resultados que confirmam a eficácia destas técnicas na detecção e parametrização de fugas indesejadas de água em área de barramentos, possibilitando a caracterização do processo de fluxo, e contribuindo para aplicação de ações corretivas nas porções de maior permeabilidade de forma a conter os efeitos danosos do processo de erosão interna.

Estes estudos são de vital importância nas investigações em todos os tipos de barragem, estando dentro das políticas de segurança de barragens, devendo ser inseridos nos procedimentos de investigação de vazamentos, proporcionando desta forma maior conhecimento dos problemas, possibilitando remediações e assegurando maior segurança das estruturas e prevenindo possíveis desastres de rompimentos, que causam perda de vidas humanas, prejuízos materiais e graves impactos ao meio ambiente.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos à Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo fomento desta pesquisa (Processo nº APQ-01855-16), ao Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear (CDTN) pela infraestrutura utilizada, à Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA) pelo apoio e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa.

REFERÊNCIAS

1. Abiye, T.; Shaduka, I. Radioactive Seepage though Groundwater Flow the Uranium Mines, Namibia. Hydrology, **2017**.
2. AEA, Atomic Energy Authority. Isotopes in Water and Environmental Management. Isotope Hydrology Section, Sri Lanka, **2013**.
3. Al-Gamal, S. A. Sources of Leakages at Al-Jumine Dam, NW Tunis, Tunisia. Acta Mineralogica-Petrographica, Szeged, **2000**.
4. Agudo, E. G.; Antonino, A. C. D.; Bandeira, J. V.; Bedmar, A. P.; Lira, C. A. B. O.; Menezes, M. O.; Viana, A.; Villar, H. The detection of leaks from Tapacurá dam, Brazil. 1st Joint World Congress on

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Groundwater, **2000**. Disponível em: https://aguassubterraneas.abas.org/asubterraneas/article/view/24321/16320

5. Alikaj, P.; Beqiraj, A.; Jovani, A.; Karriqi, A. Analysis of Water Leakage in Downstream Dam Toe of Komani Dam. Research Gate, **2016**. Disponível em https://www.researchgate.net/publication/309133629_analysis_of_water_leakage_in_downstream_dam_toe_of_komani_dam
6. Amirhosseini, Y. K. Application of Isotope and Dye Tracing Methods in Hydrology (Case Study: Havassan Dam Construction). Isotopes in Hydrology, Marine Ecosystems and Climate Change Studies. Proceedings of an International Symposium, Vol. 2, Monaco, **2011**.
7. ANA. Agência Nacional das Águas. Manual do Empreendedor, Vol. V, Guia Para Elaboração de Projetos de Barragens. Brasília, **2015**.
8. Ibarra, B. A.; Cruz, L. G., Pena, O. R.; Del Arenal, R.; Isotope investigation of water losses from the Las Lajas dam, Chihuahua, Mexico. Isotope Hygrology, Vienna, IAEA, Vol.1, 125-143, **1979**.
9. Appelo, C. A. J.; Postma, D. Geochemistry, Groundwater and Pollution, 2ª ed., Amsterdam, Balkema Publishers, **2006**.
10. Aufleger, M.; Conrad, M.; Goltz, M.; Perzlmaier, S.; Porras, P. Innovative Dam Monitoring Tools Based on Distributed Temperature Measurement. Jordan Journal of Civil Engineering, Vol. 1, Nº 1, 29-37, **2007**.
11. Ba, J.; Zhan, L.; Zhang, B. Isotope Analysis on the Recharge Source of the Leakage Water Behind the Right Dam of Suzhi Hydroeletric Station. Advanced Materials Research, **2014**.
12. Balderer, W.; Frape, S.K.; Fritz, P.; Fonte, J-CH.; Louvat, D.; Michelot, J-L. The isotope geochemistry of carbon in groundwater at Stripa. International Stripa Project; Geochimica et Cosmochimica Acta Vol. 53, 1765-1775, **1988**.
13. Battaglia, D.; Birindelli, F.; Rinaldi, M.; Vettraino, E.; Bezzi, A. Fluorescent tracer tests for detection of dam leakages: The case of the Bumbuna dam – Sierra Leone. Engineering Geology, Vol. 205, 30-39, **2016**.
14. Bedmar, A. P.; Araguás, L. A. Detection and Prevention of Leaks from Dams. Balkema Publishers, **2002**.
15. Bedmar, A. O.; Araguás, L. A.; Agudo, E. G. Carbon Isotope in Assessing the origin of water in dam leakage problems. IAEA-SM-361/21P, **1999**.
16. Bolève, A.; Fry, J-J.; Janod, F.; Lafon, A.; Revil, A. Localization and quantification of leakages in dams using time-lapse self-potential measurements associated with salt tracer injection. Journal of Hydrology, Vol. 403, 242–252, **2011**.
17. CIGB. Comissão Internacional de Grandes Barragens. As Barragens e as Águas no Mundo. International Commission on Large Dams (ICOLD), **2008**.
18. Clark, I.; Fritz, P. Environmental Isotopes in the Hydrogeology, Lewis Pub. New York, **1997**.
19. Constantz, J. E.; Niswonger, R. G.; Stewart, A. E. Analysis of Temperature Gradients to Determine Stream Exchanges with Ground Water in Rosenberry, D.O., and LaBaugh, J.W. Field techniques for estimating water fluxes between surface water and ground water. U.S. Geological Survey Techniques and Methods 4–D2, 128, **2008**.
20. Contreras, I. A.; Hernández, S. H. Techniques for Prevention and Detection of Leakage in Dams and Reservoirs. Prevention and Detection of Leakage, **2010**.
21. Cordero, C.; Plata. A. Estudio de fugas de agua en la presa Arenales, Costa Rica: Aplicaciones de técnicas de trazadores, In Estudio de fugas em embalses, IAEA, Vienna, **1999**.
22. Craft, D. Seepage Chemistry Manual, Dam Safety Technology Development Program, Bureau of Reclamation, Technical Service Center, U. S. Department of the Interior, Denver, **2005**.
23. Davis, S. N.; Thompson, G. M.; Bentley; H. W.; Stiles, G. Ground-Water Tracers - A Short Review, Vol. 18, Nº.1. Ground

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Water, **1980**.

24. Davis, S. N.; Cambell, D. J.; Bentley, H. W.; Flynn, T. J. An Introduction to Ground-Water Tracers. National Water Well Association. Department of Hydrology and Water Resources, University of Arizona, **1985**.
25. Da Silva, L. L.; Donnici, C. L.; Ayala, J. D.; Freitas, C. H.; Moreira, R. M.; Pinto, A. M. F. Traçadores: O Uso de Agentes Químicos para Estudo Hidrológicos, Ambientais, Petroquímicos e Biológicos, Química Nova, Vol. 32, Nº. 6, 1576-1585, **2009**.
26. Derubeis, E. A. Radon as a Tracer of Groundwater – Surface Water Interation in Martis Valley. Thesis of Master of Science in Geology, California State University, East Bay, **2013**.
27. Deshpande, N. V.; Panvalkar, G. A. The Potential of Borehole Geophysical Logging and Tracer Techniques in Dam Seepage Investigations, The Masterbuilder, Chennai, **2018**.
28. Dornstädter, J. Leakage detection in dams – State of the art, Društvo Slovenski Nacionalni Komite za Velike Pregrade (Slocold), Karlsruhe, **2013**. Disponível em: https://www.masterbuilder.co.in/potential-borehole-geophysical-logging-tracer-techniques-dam-seepage-investigations/
29. Dornstädter, J.; Heinemann, B. Temperature as Tracer for In Situ Detection of Internal Erosion. Paris, **2012**.
30. Dung, B. D.; Giap, T. V.; Quan, L. T.; Minh, D. A.; Lieu, D. B.; Hung, N. M.; Ky, P. Q. Research on the Use of Environmental Isotopes Technique for Safety Assessment of the Đông Mô Reservoir. Vietnam Atomic Energy Commission, Hanoi (VAEC). The Annual Report for **2006**. Disponível em: http://www.iaea.org/inis/collection/NCLCollectionStore/_Public/39/036/39036739.pdf
31. Easey J. F., Hanna G.L. The use of radioisotope tracers to identify the location of seepage areas in a dam. Proceedings of the Symposium on Isotope Techniques in Water Resources Development, IAEA, Vienna, **1987**.
32. Johnson, D. Dam Safety Guidelines Part 4 - Dam Design and Construction. Water Resources Program. Department of Ecology, State of Washington, **1993**.
33. Fan, Z.; Wang, J.; Mao, H. Studying Leakage form Left Abutment of Xiaolangdi Hydropower Station Using Tracing Method. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, **2014**.
34. FEMA. Federal Emergency Management Agency. Evaluation and Monitoring of Seepage and Internal Erosion, Interagency Committee on Dam Safety (ICODS). Maio, **2015**.
35. Ferreira, N. S. A. F. As Pesquisas Denominadas “Estado da Arte”. Educação & Sociedade, Nº 79, **2002**.
36. Ghomshei, M. M.; Allen, D. M.; Hydrochemical and Stable Isotope Assessment of Tailing pond leakage, Nickel Plate Mine, British Columbia. Environmental Geology 39, Springer-Verlag, **2000**.
37. Gómez, H. R.; Baró, G. B.; Gillen, R. Determinación de Filtraciones y Permeabilidad en un Embalse de Tierra (Sumampa–Catamarca). Comisión Nacional de Energia Atómica, República Argentina, Buenos Aires, **1975**.
38. Hien, P. D.; Khoi, L. V. Application of isotope tracer techniques for assessing the seepage of the hydropower dam at Tri An, South Vietnam. Journal of Radioanalylical and Nuclear Chemistry, Vol. 206, N°. 2, 295-303, **1996**.
39. Hocini, N.; Mami, M. Detection of Water Leaks in the Beni-Haroun Dam (Algeria) - Isotopes in Hydrology, Marine Ecosystems and Climate Change Studies. Proceedings of an International Symposium, Monaco, Vol. 2, **2011**.
40. Hughes, J. D.; Langevin, C. D.; Banta, E. R. Documentation for the MODFLOW 6 framework: U. S. Geological Survey Techniques and Methods, book 6, chap. A57, 40, **2017**. https://doi.org/10.3133/tm6A57.
41. IAEA. Investigating leaks in Dams and Reservoirs. Informativo IAEA, Vienna, **2001**. https://www.iaea.org/technicalcooperation

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

/documents/Factsheets/archive/sheet20.pdf

42. Iya, V. K.; Krishnamurthy, K.; Aggarwal, K. S.; Rajagopalan, R. A Radiotracer Study on Flow Path of Seepage in the Coffer Dams at Srisailam. International Journal of Applied Radiation and Isotopes, Vol. 18, 349-357, **1967**.

43. Jiansheng, C.; Haizhou, D. Study of fissured-rock seepage flow with isotope tracer method in single borehole. Science in China, Vol. 44, **2001**.

44. Johansson, S.; Sjödahl, P. Downstream Seepage Detection using Temperature Measurements and Visual Inspection – Monitoring Experiences from Røsvatn Field Test Dam and Large Embankment Dams in Sweden. Oslo, **2004**.

45. Käss, W., Tracing Techniques in Geohydrology, Publisher A.A. BALKEMA, Rotterdam, Netherlands, **1998**.

46. Langevin, C. D.; Hughes, J. D.; Banta, E. R.; Niswonger, R. G., Panday; Sorab; Provost, A. M. Documentation for the MODFLOW 6 Groundwater Flow Model: U.S. Geological Survey Techniques and Methods, book 6, chap. A55, 197, **2017**, https://doi.org/10.3133/tm6A55.

47. Lee, J. Y.; Kim, H. S.; Choi, Y. K.; Kim, J. W.; Cheon, J. Y.; YI, M. J. Sequential tracer tests for determining water seepage paths in a large rockfill dam, Nakdong River basin, Korea, Engineering Geology 89. 300–315, **2007**.

48. Leibundgut, C.; Maloszewski, P.; Külls, C. Tracers in Hydrology. Editora Willey-Blackwell, **2009**.

49. Maksimovich, N. G.; Khmurchik, V. T.; Demenev, A. D. The Hole of Microorganisms in Elevating the Turbidity of Dam Seepage Water, Power Technology and Engineering, Vol. 50, Nº. 1, **2016**.

50. Möbus, G. Tutorial do Programa Qualigraf. Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos. Fortaleza, **2014**. Disponível em: http://www3.funceme.br/qualigraf/uploads/documentos/Tutorial%20do%20programa%20QualiGraf.pdf

51. Monev, E. Tritium Transport Dynamics for Determination of Water's Origin on Seepage Investigations. International Symposium on Isotope Techniques in Water Resources Development and Management. Austria, **1999**.

52. Mook, W. G. Introduction. in Environmental Isotopes in the Hydrological Cycle - Principles and Applications. Ed. W. G. Mook - IHP-V / Technical Documents in Hydrology, UNESCO, Paris, Nº 39, **2000**.

53. Nasseh, S.; Ghafoori, M.; Moghaddas, N. H.; Lashkaripour, G. R. Investigation of Seepage Paths in Left Abutment of Bidvaz Dam Using Tracing Technique. International Journal of Emerging Technology and Advanced Engineering. Vol. 3, **2013**.

54. Nygren, C. Detection of Sudden Seepage Changes in Embankment Dams. Bachelor's Thesis in Computer Science, Stockholm, **2013**.

55. Noble, J.; Ansari, M. D. A. Environmental isotope investigation for the identification of source of springs observed in the hillock on the left flank of Gollaleru Earthen Dam, Andhra Pradesh, India. Journal Earth.System Science, Indian Academy of Sciences, Vol.126, Nº 5, **2017**.

56. Oliveira, J. R. C. Contribuição para a Verificação e Controle da Segurança de Pequenas Barragens de Terra, Dissertação de Mestrado Profissional em Engenharia Geotécnica da UFOP, **2008**.

57. Panvalkar, G. A.; Chunade, A. D. Tracing Dam seepage using nuclear logging and tracer techniques – a case study, ISH Journal of Hydraulic Engineering, Taylor & Francis, **2017**.

58. Peng, T. R.; Wang, C. H. Identification of Sources and Causes of Leakage on a Zoned Earth Dam in Northern Taiwan: Hydrological and Isotopic Evidence. Applied Geochemistry 23, **2008**.

59. Petitta, M.; Mugnozza, G. S.; Barbieri, M.; Fasani, G. B.; Esposito, C. Hydrodynamic and Isotopic Investigations for Evaluating the Mechanisms and Amount of Groundwater Seepage through a Rockslide Dam. Hydrological Processes 24, **2010**.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

60. Plummer, L. N.; Prestemon, E. C.; Parkhust, D. L. An Interactive Code (NETPATH) For Modeling NET Geochemical Reactions Along a Flow PATH Version 2.0, U. S. Geological Survey Water-Resources Investigations Report 94-4169, **1994**.

61. Pimenta, R. C. Utilização de Traçadores em Estudos Hidrogeológicos. Dissertação de Mestrado. Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear, Belo Horizonte, **2016**.

62. Pimenta, R. C.; Moreira, R. Characterization and Hydrochemical Tracers Analysis in an Abandoned Mine, Minas Gerais State, Brazil. 2nd International Congress Planning for Closure of Mining Operations, Santiago, **2018**.

63. Rai, S. P.; Kumar, S.; Kumar, B. Rawat, Y. S. Identification of Source of Leakage in Drainage Gallery of Tehri Dam Using Isotopic Techniques. Hydrology Journal, Vol. 35, **2012**.

64. Rojas, R.; Visurraga, R.; Maguiña, J.; Condori, J. Evaluación de filtraciones de depósito de relaves en una mina ubicada en el sur del Perú. Informe Científico Tecnológico. Instituto Peruano de Energía Nuclear, Vol. 4, 106-108, **2004**.

65. Sanchez, W.; Guidicini, G.; Silva, R. F. Condições de percolação d'agua na ombreira esquerda da Barragem de Ilha Solteira, rio Paraná, utilizando técnicas radioisotópicas. Instituto de Energia Atômica, N° 389, **1975**.

66. Santiago, M. F.; Frischkorn, H.; Silva, C. M. S. V. Métodos Isotópicos in Hidrogeologia: Conceitos e Aplicações. Fernando A. C. Feitosa [et al]. – 3ª. ed. Rio de Janeiro, CPRM, LABHID, **2008**.

67. Sardinha, A. E.; Mazzutti, R. Tratamento das Infiltrações Ocorridas na Barragem de Itá. XXV Seminário Nacional de Grandes Barragens. Comitê Brasileiro de Barragens. Salvador, **2003**.

68. Schudel, B.; Biaggi, D.; Dervey, T.; Kozel, R.; Müller, I; Ross, J. H.; Schindler, U. Utilisation des traceurs artificiels em hydrogéologie – Guide pratique . Rapp. OFEG, Sér. Géol. 3. – **2002**.

69. Swaisgood, J.; Montgomery, J.; Kofoed, V. Straight to the Source of Seepage. International Water Power & Dam Construction, **2005**. Disponível em http://www.waterpowermagazine.com/features/featurestraight-to-the-source-of-seepage/

70. Turkmen, S. Treatment of the Seepage Problems at the Kalecik Dam (Turkey). Engineering Geology, **2003**.

71. Ünal, B.; Çelik, M.; Yıldırım, T. Evaluation of seepage problems of the Armağan Dam, Kırklareli, northwestern Turkey. Bull. Eng. Environ, **2008**.

72. Valencia, J.; Mamani, E.; Maghella, G.; Condori, J. Determinación de filtraciones de uma relavera utilizando técnicas isotópicas, La Liberdad. Informe Científico Tecnológico. Instituto Peruano de Energía Nuclear, Vol. 11, 76-78, **2011**.

73. Yi, P.; Yang, J.; Wang, Y.; Mugwanezal, V. P.; Chen, L.; Aldahan, A. Detecting the Leakage Source of a Reservoir Using Isotopes, Journal of Environmental Radioactivity, **2018**.

74. Waterloo Hydrogeologic, AquaChem 2014.2 Water Quality Analysis & Geochemical Modeling, User´s Manual, Waterloo Hydrogeologic, **2017**.

75. Wibagiyo, Indroyono, Alip, Bungkus P, Haryono. Leakage investigation using radioisotope technique at Ngancar dam, Wonogiri. Research and Development of Isotope and Radiation Applications, **1998**.

76. Wright, D. E. Training Aids for Dam Safety: Evaluation of Seepage Conditions. Interagency Committee on Dam Safety. Bureau of Reclamation, **1990**.

77. Zhao, M.; Wang, H.; Sun, X.; Zhang, Y. Comparison between the Isotope Tracking Method and Resistivity Tomography of Earth Rock-Fill Dam Seepage Detection. Engineering, Vol. 3, 389-399, **2011**.

78. Zhongcheng, T.; Baohong, L.; Yingying, S. Applications of an Integrated Tracing Approach in Dam Seepage Investigation - Flow in Porous Media, From Phenomena to Engineering and Beyond. International Forum on Porous Flow and Applications, **2008.**

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

EXTRAÇÃO DOS COMPONENTES DE PERFIL LIPÍDICO A PARTIR DO PLASMA ATRAVÉS DE VÁRIOS MÉTODOS DE SORBENTES POLIMÉRICOS COM OS GRUPOS BASICOS AMÔNIO E FOSFÔNIO

EXTRACTION OF LIPID PROFILE COMPONENTS FROM PLASMA BY VARIOUS FORMS OF POLYMERIC SORBENTS WITH THE AMMONIUM AND PHOSPHONIUM BASE GROUPS

ИЗВЛЕЧЕНИЕ КОМПОНЕНТОВ ЛИПИДНОГО СПЕКТРА ИЗ ПЛАЗМЫ РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ ПОЛИМЕРНЫХ СОРБЕНТОВ С ГРУППАМИ АММОНИЕВЫХ И ФОСФОНИЕВЫХ ОСНОВАНИЙ

DORSKAIA, Elena V.[1]*; LEYKIN, Yuri A.[1]; PESTOV, Sergei M.[2]; KOVALENKO, Aleksei E.[1]

[1]Dmitry Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, Department of Expert Examination in Drug Testing and Narcoanalysis
20 Geroyev Panfilovtsev St., Moscow, 125480, Russian Federation

[2]Moscow Technological University, Department of Physical Chemistry
86 Vernadsky Ave., Moscow, 119454, Russian Federation

** Corresponding author*
edrhtu@mail.ru

Received in 16 August 2018; received in revised form 24 November 2018; accepted 26 November 2018

RESUMO

As doenças cardiovasculares são as principais causas de morte no mundo. O objetivo do artigo é revelar as formas de trocadores de ânions com grupos de bases de amônio e fosfônio, que são os mais promissores para a extração seletiva de colesterol de lipoproteínas de baixa e muito baixa densidade (LDL e VLDL), sendo seu conteúdo elevado um fator derisco para doenças do sistema circulatório. Esta pesquisa é de importância prática, considerando insuficiente seletividade e os efeitos colaterais de sorventes comerciais. O principal método aplicado é a triagem de vários sorventes por parâmetros de sorção de componentes do perfil lipídico para revelar amostras ótimas para remoção de LDL e VLDL.Foi realizada uma análise comparativa das características de sorção pelos componentes do perfil lipídico para trocadores de ânions com grupos de bases de ônio (amônio e fosfônio) em três formas: hidroxila, cloreto e bicarbonato. A capacidade sorvente para os componentes do perfil lipídico (até 5,65 μmol/g por LDL e VLDL), bem como os fatores de eficiência de sorção, foram encontrados (o coeficiente de seletividade LDL e VLDL foi de até 6,06). A capacidade dos sorventes para influenciar a aterogenicidade do plasma foi caracterizada. As formas mais promissoras de trocadores aniônicos para sorção seletiva de lipídios foram definidas: em geral, estas eram formas OH. O sorvente com grupos base de amônio possui maior capacidade de sorção e um sorvente com grupos fosfônio-base possui maior seletividade para LDL aterogênico e VLDL.Os dados do artigo podem ser úteis no desenvolvimento e na aplicação prática de colunas de sorção para remoção seletiva de colesterol LDL e VLDL com efeitos colaterais mínimos.

Palavras-chave: adsorção de plasma, sorventes de plasma, sorção de colesterol, remoção seletiva de colesterol, sorção lipídica, aterosclerose

ABSTRACT

Cardiovascular diseases are the leading causes of death globally. The purpose of the article is to reveal the forms of anion exchangers with groups of ammonium and phosphoniumbases, which are the most promising for selective extraction of low- and very-low-density lipoprotein cholesterol (LDL and VLDL), their increased content beinga risk factor of circulatory system diseases. This research is of practical importance considering insufficient selectivity and side effects of commercial sorbents. The main method applied is a

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

screening of a number of sorbents by sorption parameters of lipid profile components to reveal optimum samples for LDL and VLDL removal. We carried out a comparative analysis of sorption characteristics by the components of lipid profile for anion exchangers with groups of onium bases (ammonium and phosphonium) in three forms: hydroxyl, chloride, and bicarbonate. Sorbent capacity for lipid profile components (up to 5.65 μmol/g by LDL and VLDL), as well as sorption efficiency factors, were found (LDL and VLDL selectivity coefficient was up to 6.06). The ability of sorbents to influence plasma atherogenicity was characterized. The most promising forms of anion exchangers for the selective sorption of lipids were defined: in general, these were OH-forms. A sorbent with ammonium base groups has higher sorption capacity, and a sorbent with phosphonium base groups has a higher selectivity for atherogenic LDL and VLDL. The data of the article may be useful in the development and practical application of sorption columns for selective removal of LDL and VLDL cholesterol with minimal side effects.

Keywords: plasma sorption, plasma sorbents, cholesterol sorption, selective removal of cholesterol, lipid sorption, atherosclerosis

АННОТАЦИЯ

Актуальность исследуемой проблемы обусловлена лидирующей позицией сердечно-сосудистых заболеваний среди причин смертности в мире. Цель статьи заключается в определении форм анионитов с группами ониевых оснований, наиболее перспективных для селективного извлечения из плазмы холестерина липопротеидов низкой и очень низкой плотности (ЛПНП и ЛПОНП), повышенное содержание которого является фактором риска болезней системы кровообращения. Данное исследование имеет практическую значимость ввиду недостаточной селективности и наличия побочных эффектов у сорбентов, применяемых в медицине в настоящее время. Ведущим методом исследования данной проблемы является скрининг ряда сорбентов по показателям сорбции компонентов липидного спектра, позволяющий выявить оптимальные образцы для удаления холестерина ЛПНП и ЛПОНП. В работе проведен сравнительный анализ сорбционных характеристик по компонентам липидного спектра для анионитов с группам ониевых оснований (аммониевого и фосфониевого) в трёх формах: гидроксильной, хлоридной и бикарбонатной. Найдены емкости сорбентов по компонентам липидного спектра (до 5,65 мкмоль/г по холестерину ЛПНП и ЛПОНП), а также показатели эффективности сорбции (коэффициент селективности к ЛПНП и ЛПОНП до 6,06). Охарактеризована способность сорбентов влиять на атерогенность плазмы. Определены наиболее перспективные формы анионитов для сорбции каждой фракции липидного спектра: в основном это ОН-формы для обоих сорбентов. Показано, что сорбент с группами аммониевого основания обладает большей сорбционной способностью, асорбент с группами фосфониевого основания – большей селективностью по отношению к атерогенным липопротеидам низкой и очень низкой плотности. Рассмотрены особенности сорбции и предполагаемое образование комплексов сорбируемых молекул холестерина и триглицеридов с сорбентом с позиции их химического строения. Материалы статьи могут быть полезными при разработке и внедрении в клиническую практику сорбционных колонок для селективного удаления холестерина ЛПНП и ЛПОНП с минимумом побочных эффектов.

Ключевые слова: плазмосорбция, плазмосорбенты, сорбция холестерина, селективная сорбция ЛПНП, сорбция липидов, атеросклероз

INTRODUCTION

According to Rosstat, blood circulatory system diseases have been the main causes of death in the Russian Federation during the last decade. The most frequent reason for these diseases is the increased content of low-density and very-low-density lipoprotein cholesterol (LDL and VLDL) in blood plasma. In the normal condition, the body maintains the stable level of cholesterol due to a complex of homeostatic mechanisms including etherification, biosynthesis, and endocytosis of this component. However, its high concentration is toxic for cells (Iqbal *et al.*, 2008; Kiss and Sniderman, 2017) Literature data show that inflammatory processes are often observed in patients on hemodialysis, and uremic toxins can be more important in

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

atherosclerosis development than such standard risk factors as disturbance of lipid exchange, increased blood pressure, excess weight and smoking (Ronco *et al.*, 2007; Rosales *et al.*, 2015). The experiments in animals allowed assuming that high cholesterol level can damage the glomerular apparatus (Daugirdas *et al.,* 2015). Hypersecretion by the liver of apoliprotein B, the main protein component of VLDL, or its insufficient release from plasma can also increase the risk of atherosclerosis development (Fisher *et al.*, 2014).

The modern technology of hyperlipidemia treatment by exchange transfusion of donor plasma, as well as by extracorporeal cleaning of autoplasma with its synchronous transfusion is quite suitable. At present, the tried and tested medical aspects of the technology allow to successfully perform exchange transfusion and extracorporeal plasma correction, with multiple degrees of patient protection thus significantly facilitating the use of these methods in medical practice (Abramyan, 2007; Schwartz *et al.,.* 2013). Alongside with LDL and VLDL direct removal from plasma, the methods of solid-phase extraction of useful high-density lipoprotein (HDL) followed by its subsequent elution can be applied for preparing plasma enriched with HDL. The monograph (Telepchak *et al.*, 2004) describes the conditions for the extraction of lipids of various classes from serum with a high yield and degree of cleaning (Han, 2016). Lipid profile normalization is also one of the main clinical effects of online hemodiafiltration method (Karkar, 2016; Levy *et al.*, 2016; Ronco *et al.,* 2007). Cellulose triacetate membrane characterized by high-permeability of the diluted substances and antithrombogenicity allows to improve lipid metabolism and to reduce homocysteine level. Accumulation of the latter in the body damages the tunica intima thus resulting in multiple pathologies, including blood clots and atherosclerotic plaques formation (Nubé *et al.*, 2016). During the last 30 years the convincing evidence that methods of therapeutic apheresis can successfully be used in cardiology to treat patients with lipid exchange disturbances, who are resistant to medicinal therapy, was obtained as mentioned in (Safarova and Afanas'eva, 2014). This treatment is highly effective and safe for the removal of atherogenic classes of lipoproteins and has to be used to stabilize atherosclerosis and improve the prognosis in patients with familial hypercholesterolemia and ischemic heart disease, refractory to conservative therapy.

However, the main components for the realization of such technologies (i.e., sorbents), are not numerous now and have insufficient adsorption capacity and selectivity for lipid profile components. At the same time, there are usually no interrelations between the structure and properties of a sorbent for complex sorption systems of lipids and a sorbent, even for lipoprotein molecules of the simplest structure. Development of selective sorbents is difficult to achieve now. In fact, affinity in the heterophase system is determined by strength and type of ionogenic groups, as well as by the parameters of a physical structure of a sorbent: the degree and type of crosslinks, porosity and the features of surface layers of three-dimensional copolymers with alternation of hydrophobic and hydrophilic sites. Thus, the only effective direction is a screening of a wide range of sorbents with varying properties.

In (Altynova *et al.*, 2006), the authors showed that commercially available hemosorbents had no considerable advantage over plasma sorbents due to insufficient sorption capacity, low specificity or presence of fine particles. The use of selective hemosorbents does not currently resolve the main problem, i.e., the high cost of LDL-apheresis procedures in the treatment of patients with here dietary hypercholesterolemia.

In (Wang and Yu, 2013; Yu, 2013), the Chinese scientists studied various types of porous adsorbents on the basis of polystyrene, agarose and cellulose matrices binding LDL. They worked on the molecular recognition of pathogenic molecules by ligands. The extensive clinical practice of whole blood hemoperfusion in Chinese hospitals shows that this method is effective, safe and profitable.

Shablovsky and colleagues developed the method of obtaining coal hemosorbents with a wide range of functional groups enabling to extract hydrophobic metabolites of both the anionic and cationic nature from blood plasma. Methods of fluorescent probing and biochemical analysis showed that sorbents on the basis of Purolite ion-exchange resin had high deliganding properties, especially in relation to neutral and cationic hydrophobic metabolites. The fact that the sorbents have practically no influence on total protein and albumin content make them safe for plasma sorption (Shablovskiy *et al.*, 2009).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

The patent (Furuyoshi and Tani, 1989) offers a method for obtaining the sorbent with the amino groups having substitutes with the aromatic ring extracting LDL and VLDL due to electrostatic and hydrophobic interactions. The authors carried out the synthesis by immobilization of aniline, benzylamine, benzoic acid and p-nitrobenzoic acid on the cellulose and agarose gels treated with epichlorohydrin. Aromatic rings were shown to considerably increase affinity as well as selectivity of a sorbent for atherogenic lipoproteins.

In (Korolik *et al.*, 2011), it is stated that when maximum diet therapy and medical therapy are not effective, the DALI LDL-apheresis system might be recommended for wide clinical use with the purpose of quick and safe correction of lipid exchange disturbances.

Agishi and coauthors (1994) published data on the use of the Liposorber LA-15 system for LDL-apheresis in the treatment of coronary and peripheral vascular diseases associated with severe hypercholesterolemia. The system consists of three main components forming the closed extracorporeal circuit: the unit for plasma separation Sulflux FS-05, Liposorber LA-15 columns for LDL adsorption and the apheresis unit MA-01 for monitoring and control of plasma separation and adsorption-desorption. The system selectively extracts lipoproteins containing apoliprotein B including LDL, VLDL, and lipoprotein (a).

The LDL continuous apheresis system with automatic regeneration of a dextran sulfate cellulose column is described in (Mabuchi *et al.,* 1987). The authors used two columns containing 150 ml of a sorbent. The total amount of the circulating plasma was 400 ml. After 600 ml of plasma had passed over the first column, the second column was used, while the first column was regenerating. Thus, alternate use of two columns allowed maintaining the efficiency of the unit. Control was maintained by means of the computerized unit that excluded the necessity of the additional manipulations used in an ordinary method with one column. In processing 4-5 l of plasma LDL and VLDL levels decreased by 63-71%, whereas HDL level remained unchanged. This method is applicable to the treatment of patients with familiar hypercholesterolemia and severe coronary heart disease.

Bambauer (2002) described clinical results of LDL apheresis obtained by different methods. Four systems of LDL apheresis were studied: dextran sulfate adsorption (Liposorber, Kaneka), immunoadsorption (Therasorb, Baxter), LDL hemoperfusion (Dali, Fresenius) and the immunoabsorption system with special anti-lipoprotein (a) columns (Lipopak, Pocard). The authors showed high efficiency of LDL apheresis of all four methods, and clinical results had no significant differences. Before LDL apheresis lipoprotein mean levels in patients were as follows (mg/dl): total cholesterol was equal to 476.4±74.9; LDL – 295.5±71.6; HDL – 38.9±7.8; triglycerides – 508.2±212.8; lipoprotein (a) – 52.4±11.3; fibrinogen – 273.2±46.7 and 472.8±121.2. After the general period of LDL apheresis studies (84.9±43.2 months) the mean decrease in values (%) was as follows: total cholesterol was equal to 50.6; LDL – 52.2; lipoprotein (a) – 64.3; triglycerides – 43.1; apoliprotein B – 39.5; fibrinogen – 26.7.

In (Kobayashi *et al.*, 2002), the authors carried out the analysis of dextran sulfate cellulose sorption material of nearly the same chemical structure as an adsorbent in Liposorber LA-15/LA-40 systems, but with larger particle size. In all the blood perfusion experiments this material extracted atherogenic LDL cholesterol, the concentration of HDL cholesterol remaining practically unchanged. When using fresh human donor blood or bovine blood to which acidic citrate dextrose or sodium citrate was added as a coagulant, the adsorbent revealed minimum side effects concerning activation and loss of blood cells thus showing its good hemocompatibility. Besides, the adsorbent had mechanical stability and did not cause hemolysis. In a series of experiments, adsorbent removed more than 25% of triglycerides and LDL.

German scientists conducted in vitro studies of the efficacy and biocompatibility of LDL absorber in the course of lipid apheresis by hemoperfusion (Bosch *et al.*, 1993). The adsorbent represented the modified polyacrylate gel immobilized on a solid support. The absorber revealed the ability to selectively remove LDL particles from the whole blood. In vitro experiments showed quantitative adsorption of atherogenic LDL cholesterol and low nonspecific removal of useful HDL cholesterol. The obvious advantage of such hemoperfusion over plasmapheresis is the absence of an extra stage of plasma separation. This reduces the cost of the extracorporeal circuit and significantly simplifies its use.

Another work (Bosch *et al.*, 2006) reviews

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

direct adsorption of LDL (DALI), whose main advantage is simplicity and convenience of use. Extracorporeal circuit consisted only of sterile disposable expendables. To decrease LDL cholesterol content for at least 60% per session, the authors used four different configurations: DALI 500, 750, 1000 and 1250. 96% of the sessions showed no complications. However, some patients complained of such side effects as hypotension and paresthesia, especially during the initial sessions. Mean decrease in concentration per one session constituted (%) as follows: 69±12 for LDL cholesterol; 41±18 for triglycerides; 15±10 for HDL cholesterol; 19±11 for fibrinogen; and 62±24 for lipoprotein (a) (in patients with a concentration of lipoprotein (a) more than 30 mg/dl).

Cheng Y. and others studied amphiphilic adsorbent for LDL removal in vitro and in vivo. The adsorbent was prepared using a technique described in (Wang *et al.*, 2002). The authors studied the effects of sulfonation and grafting time of cholesterol on the swelling property of adsorbent. When these parameters were 3 and 5 h, respectively, the amphiphilic adsorbent had a high adsorption capacityfor LDL without significant HDL adsorption. The adsorption capacity for LDL, total cholesterol, and triglycerides was 1.916, 2.132, 1.349 mg/ml, respectively. Experiments in rabbits with hyperlipidemia fed with fodder enriched with cholesterol or yolks were performed. After 2 h hemoperfusion, the LDL levels decreased from 3.619±0.354 to 0.724±0.07 mmol/l showing that the adsorbent was capable of effectively removing LDL without side effects (Cheng *et al.*, 2003).

Li H. and colleagues (2004) studied synthesis and LDL adsorption for hemocompatible crosslinked macroporous copolymers. The synthesis was carried out by suspension polymerization of vinylacetate and triallylisocyanurate with the subsequent transformation in a copolymer of vinyl alcohol and triallylisocyanurate. Then epoxidation was carried out through the reaction of epichlorohydrin with a copolymer hydroxyl group. Further carboxyl groups were immobilized through 1.6-hexanediamine or thriethylenetetramine or attached directly to the copolymer hydroxyl group. The adsorption capacities of the obtained sorbents were (mg/g) as follows: 0.78-2.70 for total cholesterol; 0.24-0.66 for HDL cholesterol; 0.54-2.04 for LDL and VLDL cholesterol. The selectivity defined as the ratio of capacities for (LDL+VLDL)/HDL was 1.76-3.09.

Koga and others (1999) studied long-term effects of LDL apheresis influencing the course of carotid atherosclerosis in patients with familial hypercholesterolemia. Two groups of patients with familial hypercholesterolemia were examined, i.e., two homozygous and nine heterozygous patients who received the combined treatment of LDL apheresis and medicinal therapy to decrease the LDL level for a mean of 7.8 years. The mean treatment period for the control group of 10 heterozygous patients was only 5.5 years. As a result of LDL apheresis, the LDL cholesterol level decreased from 16.0±3.60 to 6.43±0.07 mmol/l in homozygous patients and from 11.5±2.46 to 4.32±1.2 mmol/l in heterozygous ones. During the long-term treatment, the existing plaques tended to increase, and new ones were formed in the carotid artery in both groups.

MATERIALS AND METHODS

Previously, we investigated a wide range of sorbents of various classes: cation and anion exchangers, polyampholytes, neutral sorbents, and active coals, specific sorbents. Sorbents good at extracting lipoproteins were shown to be the most numerously presented by a group of anionites. Anionite AMX-1 was studied in three ionic forms: hydroxyl, bicarbonate, and chloride. The use of various forms allows varying hydrophilicity-hydrophobicity of onium groups influencing the sorption of bipolar lipids. Further, it was interesting to compare the sorption of lipid profile components by forms of two anion exchangers with the groups of quaternary onium bases: ammonium (AMX-1) and phosphonium (QP quaternary phosphonium) base and determine the most promisinganion exchanger type and a form for LDL and VLDL extraction.

The sample of AMX-1 taken for analysis represents anion exchanger on the basis of chloromethylated styrene-divinylbenzene copolymer (10.1% of chlorine, 30% of divinylbenzene, 115% of isooctane, the specific surface area – 110 m^2/g, the total pore volume – 1.5 cm^3/g, porosity – 52%), modified by monoethanolamine (synthesized by A. I. Zorina, All-Russian Research Institute of Chemical Technology). The QP sorbent is a macroporous phosphorylated styrene-divinylbenzene copolymer

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

with quaternary tripropylphosphonic groups.

The studied sorbents have the following formulae, as in Equation 1.

Positively charged nitrogen and phosphorus atoms interact with negatively charged parts of the sorbed molecules of cholesterol and triglyceride presented in all lipoprotein fractions (but mostly in chylomicrons and VLDL), triglyceride and esterified cholesterol being contained in the core of the particle and non-esterified cholesterol being on its surface (Hussain, 2014; Iqbal *et al., 2014;* Iqbal and Hussain, 2009; Klimov and Nikul'cheva, 1999).

Figure 1 shows the structural formulae of cholesterol and triglyceride. The highest electron density is concentrated on oxygen atoms of both molecules, thus providing their affinity to anion exchangers with the groups of the onium bases.

It is possible to assume that complexes are formed according to reaction schemes 1, 2 for the sorption on AMX-1 anion exchanger (the reactions are similar for QP sorbent).

The experimental method consisted in keeping the sorbents in contact with plasma for the extraction of different components from it. Then the analyses of initial plasma and plasma after sorption were performed in the licensed laboratory In vitro. The content of triglycerides, total cholesterol, HDL, LDL, and VLDL was determined.

Automatic biochemical analyzer Architect c8000 was used. The methods of determination are presented in Table 1.

Sorption capacity was calculated as Equation 2:

$$m = (C_0-C_f)V/g, \quad \text{(Eq. 2)}$$

where

m – sorption capacity, μmol/g;

C_0 – initial concentration, mmol/l;

C_f – final concentration, mmol/l;

V – volume of plasma, ml;

g – sorbent mass per dry weight.

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the analyses are presented in Table 2.

Columns 3-7 contain data on sorption capacities for lipid profile components: triglycerides (TG), total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL), low- and very-low-density lipoprotein cholesterol (LDL and VLDL).

On the basis of these values, the following parameters have been calculated characterizing a complex effect of sorbents on several components, as well as selectivity of extraction of certain components or a complex of several components of lipid profile.

Capacity for LDL and VLDL, μmol/g (column 8):

$$m(LDL+VLDL) = m(LDL)+m(VLDL) \quad \text{(Eq. 3)}$$

Capacity for LDL, VLDL and TG, μmol/g (column 9):

$$m(LDL+VLDL+TG) = m(LDL)+m(VLDL)+m(TG) \quad \text{(Eq. 4)}$$

The relation of capacities m(LDL)/m(HDL) (column 10).

The selectivity coefficient equal to the relation of capacities m(LDL+VLDL)/m(HDL) (column 11).

The relation of capacities m(LDL+VLDL+TG)/m(HDL) (column 12).

To characterize the atherogenic properties of plasma that underwent sorption, we calculated the following parameters:

- the atherogenic index (K_1, column 13) is equal to the relation of LDL concentration to HDL concentration;

- the atherogenic coefficient (K_2, column 15) is equal to the relation of LDL+VLDL concentration to HDL concentration;

- the elation of concentration (LDL+VLDL+TG)/HDL (K_3, column 17).

The percentage of change was calculated for each of these parameters to evaluate the

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

influence of sorbents on plasma atherogenicity (columns 14, 16, 18):

$$\delta K_i = (K_i/K_{i0}-1)x100, \qquad \text{(Eq. 5)}$$

where K_i – K_1, K_2, K_3 parameters for plasma which underwent sorption;

K_{i0} – K_1, K_2, K_3 parameters for initial plasma.

Positive percentage of change means that the parameter has increased and, respectively, plasma has become more atherogenic. Negative percentage of change means otherwise.

Apparently, the capacity of AMX-1 for lipoproteins was higher than that of QP in all three forms. Probably, it can be explained by a steric factor: a quaternary atom of phosphorus in QP molecule is shielded by three voluminous propyl substitutes, while the nitrogen atom in AMX-1 has hydrogens as two of four substitutes making it significantly easier to reach by the sorbed components. Among various forms of one sorbent, both for AMX-1 and QP, the greatest sorption is typical of the hydroxyl form, followed by the chloride form. The bicarbonate form has the smallest sorption. HDL fraction is an exception, being absorbed slightly better by bicarbonate forms, than by chloride ones. However, this difference is quite insignificant.

Total capacities for LDL+VLDL and for LDL+VLDL+TG are higher for AMX-1 anion exchanger, but QP in all three forms has a higher selectivity for LDL than AMX-1. Practically all the capacities and selectivity for LDL, LDL+VLDL and LDL+VLDL+TG improve in the row of an HCO_3-form<Cl-form<OH-form for both sorbents. Exception: the selectivity for LDL+VLDL and LDL+VLDL+TG of AMX-1 increases in the row of HCO_3-form<OH-form<Cl-form.

Despite having high adsorption capacities for each lipid profile component, AMX-1 in all three forms extracts a significant amount of useful HDL, deteriorating plasma by increasing its atherogenicity. On the contrary, the plasma atherogenicity is only slightly influenced by QP, which makes it safe from this point of view, though it has small capacities for LDL and VLDL.

CONCLUSIONS:

As a result of the study, the most promising forms of AMX-1 and QP anion exchangers for the sorption of each lipoprotein fraction have been determined: generally, these are OH-forms for both sorbents. The comparative analysis showed that AMX-1 has higher sorption capacity, and QP has a higher selectivity for LDL and VLDL. An explanation of peculiarities and distinctions in the sorption for the examined anion exchanger forms considering the structure of their functional groups was suggested. The results obtained could be a step forward to the improvement of plasma sorption methods for the treatment of cardiovascular diseases.

ACKNOWLEDGMENTS

The work was supported by the Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, project number 017-2018.

REFERENCES:

1. Abramyan, M. V.; Opportunities of lipopheresis in the complex treatment of atherosclerosis, *Kreativnaya kardiologiya* **2007**, 1-2, 208.
2. Agishi, T.; Wood, W.; Gordon, B.; LDL Apheresis Using the Liposorber ® LA-15 System in Coronary and Peripheral Vascular Disease Associated with Severe Hypercholesterolemia, *Current Therapeutic Research* **1994**, 55(8), 879.
3. Altynova, E. V.; Afanas'eva, O. I.; Boldyrev, A. G.; Potokin, I. L.; Sokolov, A. A.; Afanas'eva, M. I.; Pokrovskiy, S. N.; Hemosorbents for removal of atherogenic lipoproteins (in vitro comparison), *Efferentnaya terapiya* **2006**, 12(4), 3.
4. Bambauer, R.; Low-Density Lipoprotein Apheresis: Clinical Results with Different Methods, *Artif Organs* **2002**, 26(2), 133.
5. Bosch, T.; Gahr, S.; Belschner, U.; Schaefer, C.; Lennertz, A.; Rammo, J.; Direct Adsorption of Low-Density Lipoprotein by DALI-LDL-Apheresis: Results of a Prospective Long-term Multicenter Follow-up Covering 12 291 Sessions, *Ther Apher Dial*. **2006**, 10(3), 210.
6. Bosch, T.; Schmidt, B.; Blumenstein, M.;

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Gurland, H.-J.; Lipid Apheresis by Hemoperfusion: In Vitro Efficacy and Ex Vivo Biocompatibility of a New Low-Density Lipoprotein Absorber Compatible with Human Whole Blood, *Artif Organs* **1993**, 17(7), 640.
7. Cheng, Y.; Wang, S.; Yu, Y.; Yuan, Y.; In Vitro, In Vivo Studies of a New Amphiphilic Adsorbent for the Removal of Low-Density Lipoprotein, *Biomaterials* **2003**, 24(13), 2189.
8. Daugirdas, J. T.; Blake, P. G.; Ing, T. S., eds.; *Handbook of Dialysis.* Wolters Kluwer Health, 2015.
9. Fisher, E.; Lake, E.; Mcleod, R. S.; A polipoprotein B100 quality control and the regulation of hepatic very low density lipoprotein secretion, *J. Biomed. Res*. **2014,** 28(3), 178.
10. Furuyoshi, S.; Tani, N.; Lipoprotein Adsorbent and Apparatus for Removing Lipoproteins Using the Same: patent 4,814,077 United States, **1989**, appl. No. 12,232.
11. Han, X.; *Lipidomics. Comprehensive Mass Spectrometry of Lipids*. Wiley: Orlando, Florida, 2016.
12. Hussain, M. M.; Intestinal Lipid Absorption and Lipoprotein Formation, *Curr Opin Lipidol.* **2014**, 25(3), 200.
13. Iqbal, J.; Boutjdir, M.; Rudel, L. L.; Hussain, M. M.; Intestine-specific MTP and global ACAT2 deficiency lowers acute cholesterol absorption with chylomicrons and HDLs, *J. Lipid Res.* **2014**, 55(11), 2261.
14. Iqbal, J.; Hussain, M. M.; Intestinal Lipid Absorption, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2009**, 296(6), E1183.
15. Iqbal, J.; Lawrence, L. R.; Hussain, M. M.; Microsomal Triglyceride Transfer Protein Enhances Cellular Cholesteryl Esterification by Relieving Product Inhibition, *J. Biol. Chem.* **2008**, 283(29), 19967.
16. Karkar, A.; *Advances in Hemofiltration.* Exlibra, 2016.
17. Kiss, R. S.; Sniderman, A.; Shunts, channels, and lipoprotein endosomal traffic: new model of cholesterol homeostasis in the hepatocyte, *J. Biomed. Res.* **2017**, 31(2), 95.
18. Klimov, A. N.; Nikul'cheva, N. G.; *Metabolism of Lipids and Lipoproteins and Its Disorders*, Piter Kom: Saint Petersburg, 1999.
19. Kobayashi, A.; Nakatani, M.; Furuyoshi, S.; Tani, N.; In Vitro Evaluation of Dextran Sulfate Cellulose Beads for Whole Blood Infusion Low-Density Lipoprotein-Hemoperfusion, *Ther Apher.* **2002**, 6(5), 365.
20. Koga, N.; Watanabe, K.; Kurashige, Y.; Sato, T.; Hiroki, T.; Long-Term Effects of LDL Apheresis on Carotid Arterial Atherosclerosis in Familial Hypercholesterolaemic Patients, *Journal of Internal Medicine* **1999**, 246(1), 35.
21. Korolik, A. K.; Kirkovskiy, V. V.; Karchak, V. I.; Extracorporeal correction of dyslipidemia, *Zdravookhraneniye* **2011**, 1, 60.
22. Levy, J.; Brown, E.; Lawrence, A.; *Oxford Handbook of Dialysis. The Essential Guide to Dialysis and the Management of End Stage Kidney Disease.* University Press: Oxford, 2016.
23. Li, H.; Zhang, Y.; Chen, X.; Shi, K.; Yuan, Z.; Liu, B.; Shen, B.; He, B.; Synthesis and Adsorption Aspect of Crosslinked PVA-Based Blood Compatible Adsorbents for LDL Apheresis, *Reactive & Functional Polymers* **2004**, 58(1), 53.
24. Mabuchi, H.; Michishita, I.; Takeda, M.; Fujita, H.; Koizumi, J.; Takeda, R.; Takada, S.; Oonishi, M.; A New Low Density Lipoprotein Apheresis System Using Two Dextran Sulfate Cellulose Columns in an Automated Column Regenerating Unit (LDL Continuous Apheresis), *Atherosclerosis* **1987**, 68(1-2), 19.
25. Nubé, M. J.; Grooteman, M. P. C.; Blankestijn, P. J.; *Hemodiafiltration. Theory, Technology and Clinical Practice*. Springer, 2016.
26. Ronco, C.; Canaud, B.; Aljama, P.; Hemodiafiltration; *Contributions to Nephrology, Karger Publ*. **2007**, 158, 211, 216, 219.
27. Rosales, L.; Thijssen, S..; Kruse, A.; Sipahioglu, M. H.; Hirachan, P.; Raimann, J. G.; Kuntsevich, V.; Carter, M.; Levin, N. W.; Kotanko, P.; Inflammatory Response to Sorbent Hemodialysis, *ASAIO J.* **2015**, 61(4), 463.
28. Safarova, M. S.; Afanas'eva, O. I.; Application of lipoprotein apheresis in atherosclerosis and its complications, *Ateroskleroz i dislipidemii* **2014**, 2, 5.
29. Schwartz, J.; Winters, J. L.; Padmanabhan, A.; Balogun, R. A.;

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Delaney, M.; Linenberger, M. L.; Szczepiorkowski, Z. M.; Williams, M. E.; Wu, Y.; Shaz, B. H.; Guidelines on the Use of Therapeutic Apheresis in Clinical Practice - Evidence-Based Approach from the Writing Committee of the American Society for Apheresis, *Journal of Clinical Apheresis* **2013**, 28(3), 145.
30. Shablovskiy, V. O.; Korolik, E. V.; Korolenko, E. A.; Tuchkovskaya, A. V.; Korolik, A. K.; Kazakov, F. I.; Kirkovskiy, V. V.; Ivashina, O. V.; Coal hemosorbents for extracorporeal blood purification and estimation of their efficiency by fluorescence sensing, *Vestnik BGU* **2009**, 2(3), 10.
31. Telepchak, M. J.; August, T. F.; Chaney, G.; *Forensic and Clinical Applications of Solid Phase Extraction.* Humana Press: Totowa, New Jersey, 2004.
32. Wang, S. Q.; Yu, Y. T.; Cui, T.; Cheng, Y.; Cellulose Amphiphilic Adsorbent for the Removal of Low Density Lipoprotein, *Artif Cells Blood Subs Immob Biotechnol.* **2002**, 30(4), 285.
33. Wang, Y.-J.; Yu, Y.-T.; Development of Resin Adsorbents for Blood Purification at Nankai University in China, *Artificial Cells, Blood Substitutes, and Biotechnology* **2011**, 39(2), 92.
34. Yu, Y.-T.; Adsorbents in Blood Purification: From Lab Search to Clinical Therapy, *Chinese Science Bulletin* **2013**, 58(35), 4357.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 1. *Methods of determination of lipid profile components*

Component	Method
Triglycerides	Enzymatic colorimetric (GPO PAP)
Total cholesterol	Enzymatic, cholesterol esterase(CHOD-PAP)
HDL cholesterol	Direct measurement following polyanionic adsorption of other lipoproteins
LDL cholesterol	Calculation method (according to Fridvald's formula)
VLDL cholesterol	Calculation method

Table 2. *Sorption of lipid profile components by various forms of anion exchangers with onium base groups*

N	Sorbent	m, μmol/g							m(LDL)/m(HDL)	m(LDL+VLDL)/ m(HDL)	m(LDL+VLDL+TG)/ m(HDL)	K_1	$\delta K_{1,\%}$	K_2	$\delta K_{2,\%}$	K_3	$\delta K_{3,\%}$
		TG	TC	HDL	LDL	VLDL	LDL+VLDL	LDL+VLDL+TG									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	AMX-1 (OH)	3.15	7.90	2.24	4.19	1.47	5.65	8.80	1.87	2.52	3.92	5.7	26.7	7.4	26.1	11.3	25.7
2	AMX-1 (Cl)	3.09	7.06	1.98	3.63	1.45	5.08	8.17	1.83	2.56	4.12	5.7	27.1	7.4	25.8	11.2	24.7
3	AMX-1 (HCO_3)	2.87	6.79	2.01	3.42	1.37	4.79	7.66	1.70	2.39	3.82	5.5	22.4	7.2	21.5	10.8	20.7
4	QP (OH)	2.02	3.21	0.45	1.84	0.91	2.75	4.77	4.06	6.06	10.5	4.5	1.0	5.9	-0.3	8.8	-1.8
5	QP (Cl)	1.13	1.75	0.31	0.89	0.55	1.44	2.57	2.90	4.70	8.40	4.6	2.3	6.0	1.3	9.0	0.4
6	QP (HCO_3)	0.51	1.31	0.34	0.74	0.23	0.97	1.48	2.17	2.83	4.33	4.6	1.9	6.0	1.9	9.1	1.9

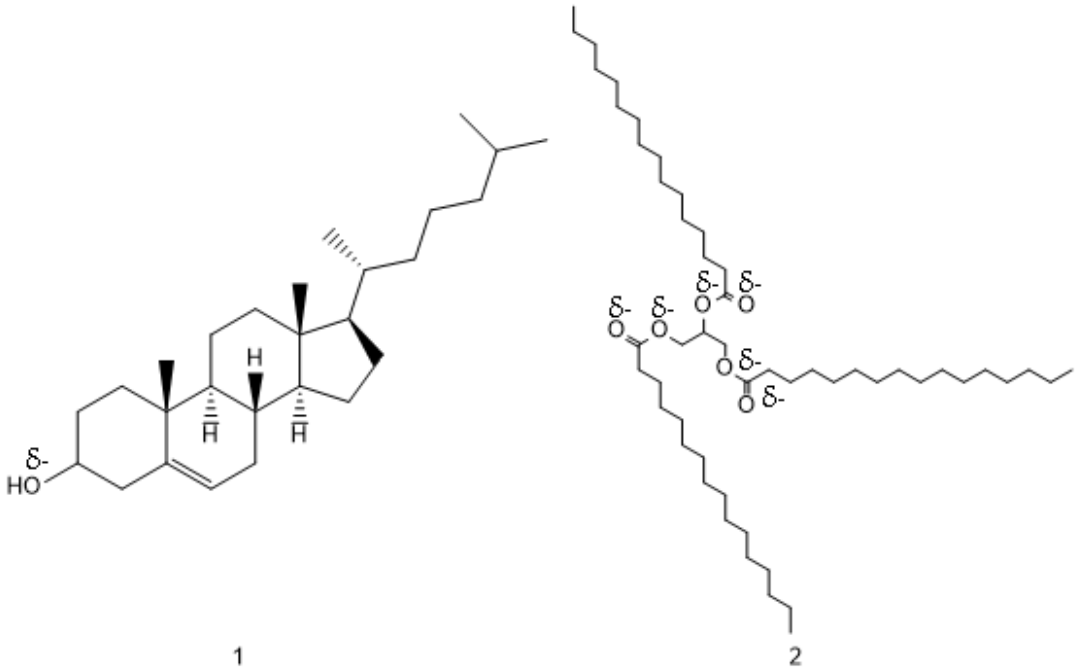
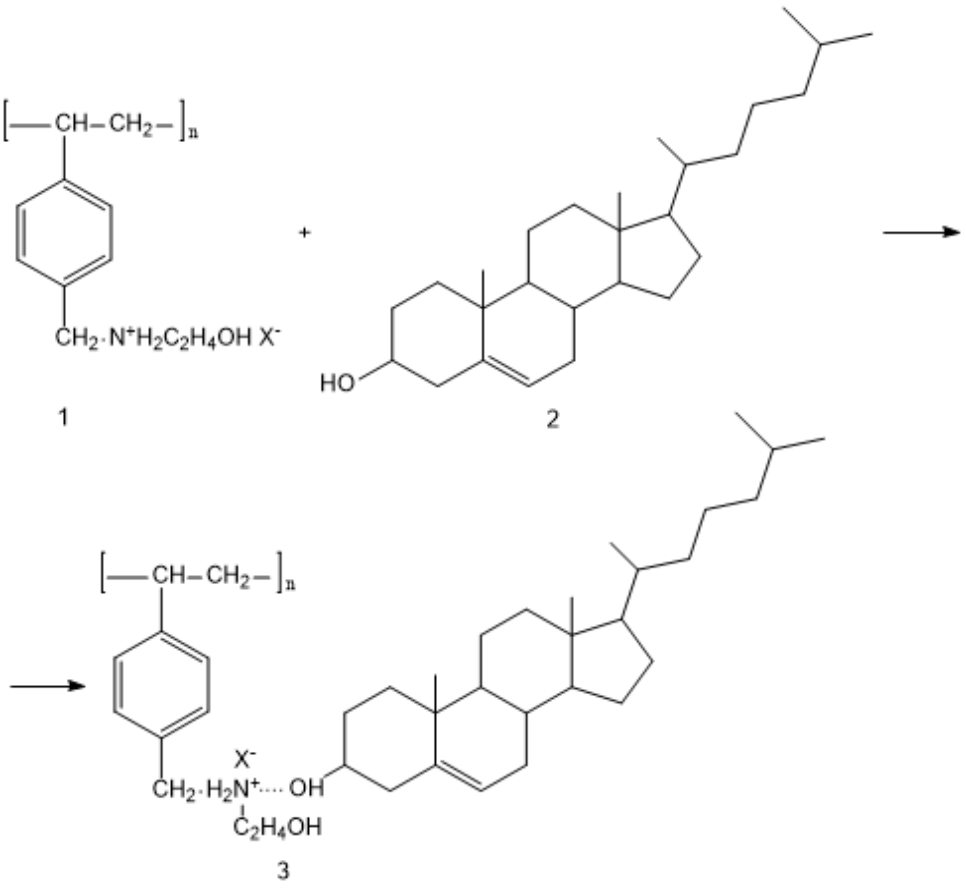


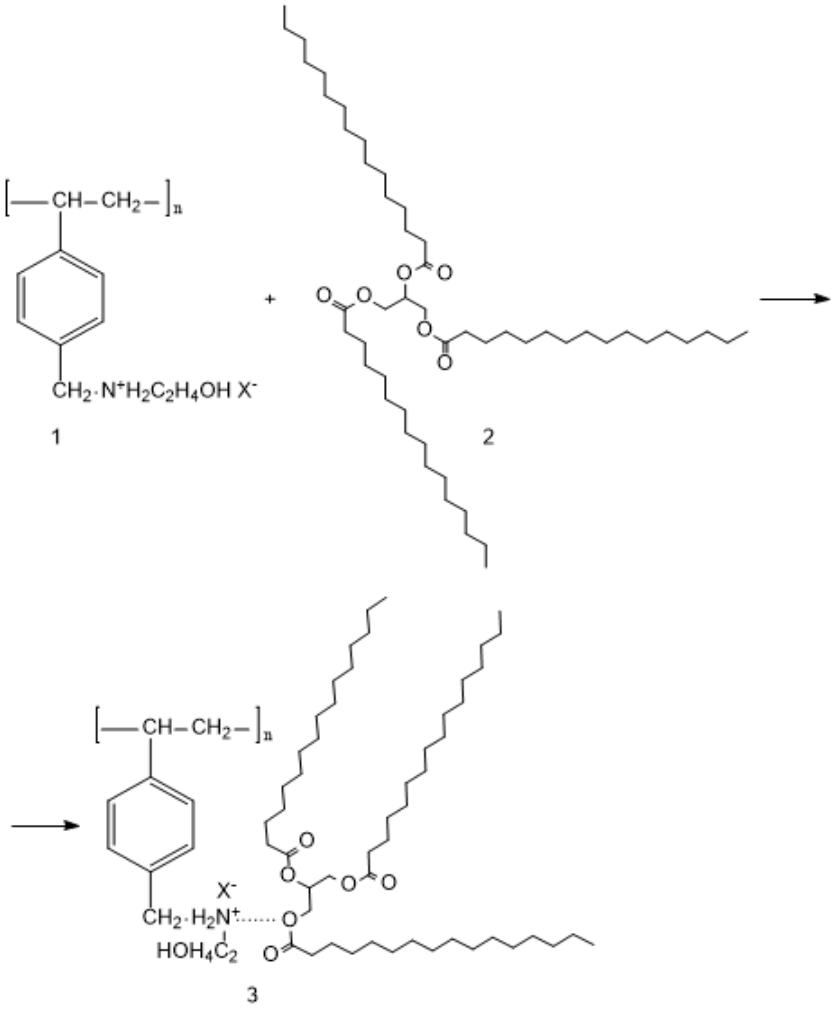
Figure 1*. Structural formulae of sorbates: 1 – cholesterol, 2 – triglyceride*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil



Scheme 1. *Presumed reaction of complex (3) formation for the sorption of cholesterol (2) by AMX-1 anion exchanger (1)*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil



Scheme 2. *Presumed reaction of complex (3) formation for the sorption of triglyceride (2) by AMX-1 anion exchanger(1)*

Equation 1

AMX-1: $[Pol\text{-}N^{+}H_2C_2H_4OH][X]^{-}$

QP: $[Pol\text{-}P^{+}(C_3H_7)_3][X]^{-}$,

where $[X]^{-} = OH^{-}$, Cl^{-} or HCO_3^{-}

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE *Sida planicaulis* Cav. (Malvaceae) frente FUNGOS FILAMENTOSOS

RESEARCH OF ANTIFUNGAL POTENTIAL OF S*ida planicaulis* Cav. (MALVACEAE) FUNGUS FILAMENTOSOS FRONT

SOBREIRA, Ana Laura de Cabral[1*]; SOUSA, Ana Clara da Rocha[2]; CARMO, Egberto Santos[3]; DA COSTA, Danielly Albuquerque[4]

[1]Universidade Federal da Paraíba, Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Lot. Cidade Universitária, cep 58033-455, João Pessoa – PB, Brasil
(fone: +55 83 9 9666 7565)

[2,3]Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, Departamento de Farmácia, Olho D'água da Bica S/N, cep 58175-000, Cuité – PB, Brasil
(fone: +55 83 9 9929 1846);

[4]Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências e Saúde, Departamento de Fisiologia e Patologia, Lot. Cidade Universitária, cep 58033-455, João Pessoa – PB, Brasil
(fone: +55 83 9 9938 9912)

** Autor correspondente*
e-mail: lauracabralas@gmail.com

Received 23 November 2018; received in revised form 27 November 2018; accepted 28 November 2018

RESUMO

Sida planicaulis, conhecida popularmente como "vassoura", é muito comum no Curimataú Paraibano, porém pouco estudada com relação a seu potencial antimicrobiano. Levando-se em consideração tal fato, este trabalho objetivou avaliar a atividade antifúngica do extrato etanólico bruto e as fases hexânica, clorofórmica, acetoetílica e hidroalcoólica da referida planta sobre os fungos filamentosos *Rhizopus oryzae, Exophyala werneckii, Aspergillus niger, Aspergillus flavus, Trichophyton mentagrophytes, Cladosporum* 2B3 *e Microsporum canis*. A atividade antifúngica foi verificada inicialmente pela técnica de difusão em Ágar. Realizou-se incubação em estufa bacteriológica a 28ºC, por 7 a 15 dias. A atividade antifúngica foi avaliada pela medição dos valores dos halos de inibição. Posteriormente, foi realizada a determinação da Concentração Inibitória Mínima pela técnica de microdiluição, onde todos os testes foram realizados em triplicata. Os resultados evidenciaram atividade antifúngica contra o microrganismo *Trichophyton mentagrophytes*. Os valores dos halos de inibição variaram entre 15 e 36 mm sendo que frente as outras espécies o extrato e as fases não apresentaram atividade antifúngica. Pode-se concluir que as amostras utilizadas da espécie *Sida planicaulis* possuem efeito inibidor contra o fungo *T. mentagrophytes*, mas não obtiveram concentrações adequadas para o desenvolvimento de um novo antifúngico.

Palavras-chave: *Atividade antimicrobiana, Produto Natural, Fitoterapia.*

ABSTRACT

Sida planicaulis, popularly known as "vassoura", is very common in Curimataú Paraibano, although little studied in relation to its antimicrobial potential. This study aimed to investigate the antifungal activity of the crude ethanolic extract and its phases: hexane, chloroform, aceto- and hydroalcoholic phase of the plant on the filamentous fungi *Rhizopus oryzae*, *Exophyala werneckii*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Cladosporum* 2B3 and *Microsporum canis*. The antifungal activity was verified by the propagation technique in Agar. Incubation was carried out in a bacteriological oven at 28ºC for 7 to 15 days. The antifungal activity was evaluated by the values of the inhibition halos, the concentration of the Minimal Inhibitory by the microdilution technique, where all testes were performed in triplicate. The results showed antifungal activity against the microorganism Trichophyton mentagrophytes, the values of the inhibition halos varied between 15 and 36 mm, Third, species of extract and phases are not an antifungal activity. It can be

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

concluded that the samples used are specific to the inhibitory plane against the fungus *T. mentagrophytes*, but did not obtain the units used for the development of a new antifungal.

Keywords: *Antimicrobial activity, Natural product, Phytotherapy*.

INTRODUÇÃO

As infecções fúngicas apresentam uma frequência baixa se comparadas às infecções bacterianas, embora sua mortalidade e morbidade são de intensa preocupação. Esta elevada taxa de mortalidade se deve especialmente à dificuldade e demora do diagnóstico e tratamento, principalmente por essas infecções possuírem uma sintomatologia inespecífica, particularmente nos estágios iniciais da doença (Ayats et al., 2010; Badiee e Alborzi, 2011).

Os tratamentos das micoses, no entanto, muitas vezes não são satisfatórios, uma vez que os antifúngicos podem levar a recidiva das infecções e podem apresentar importante toxicidade (Sharon e Sorrel, 2007). Em virtude do acelerado surgimento de resistência destes microrganismos tem se tornado constante a busca por novos fármacos antifúngicos mais potentes, mas, sobretudo, mais seguros que os existentes, no combate às infecções causadas tanto por bactérias quanto por fungos (Lee et al., 2008; Peres et al., 2009; Santos et al., 2010; Leitão et al., 2016; Silva et al., 2018; Vinche, 2018).

Nesse contexto, o estudo de plantas medicinais é considerado uma significativa estratégia na pesquisa de novos compostos com atividade antifúngica recebendo assim grande atenção dos pesquisadores. Dentre os principais meios de busca desses compostos, estão as informações de como as plantas são utilizadas por diferentes grupos étnicos, nos estudos de etnobotância e os estudos farmacológicos das preparações utilizadas, abordadas no âmbito da etnofarmacologia (Alencar et al., 2015; Oliveira et al., 2015).

Segundo Silva et al. (2005), a evolução de uma ampla variedade de compostos fitoquímicos com atividade antifúngica resultou da intensa pressão seletiva exercida por fungos patogênicos sobre as plantas, isso tem sido demostrado conforme pesquisas de isolamento de componentes antifúngicos ativos provenientes dos extratos brutos das plantas (Costa et al., 2000; Silva et al., 2001; Passos et al., 2002; Souza et al., 2002). Apesar de a literatura mostrar que um número relevante de famílias e espécies de plantas já tenham sido estudadas até o momento, se levarmos em consideração que existem cerca de 300.000 espécies de plantas conhecidas, ainda há muito trabalho a ser feito. Logo mais se julgarmos que para a grande parte destas plantas apenas uma de suas partes, como folha, raiz ou caule, ou somente um tipo de preparação como óleo essencial ou extrato foram estudados (Duarte, 2006).

Recentemente, pesquisas envolvendo espécies do gênero *Sida* cresceram consideravelmente em diversas partes do mundo por estas possuírem diferentes propriedades terapêuticas e relatos de uso. As investigações fitoquímicas realizadas para espécies da família Malvaceae mostraram que estas espécies são ricas em ácidos graxos, óleos essenciais, sesquiterpenóides, esteróides, triterpenos, alcaloides, cumarinas, compostos fenólicos, flavonoides, entre muitos outros compostos (Costa et al., 2007; Silva et al., 2010; Chaves, et al., 2017; Sobreira et al., 2018).

Nesse contexto, a espécie *Sida planicaulis,* conhecida popularmente como "vassoura" é uma planta cujo potencial antimicrobiano é praticamente inexplorável, dessa forma a avaliação da possível atividade antifúngica de seus extratos contra fungos filamentosos potencialmente patogênicos, foi o alvo do presente estudo.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local de Trabalho

O trabalho foi realizado nos Laboratórios de Fitoquímica e Microbiologia da Unidade Acadêmica de Saúde (UAS), do Centro de Educação e Saúde (CES), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus Cuité-PB.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

2.2. Material Vegetal

As partes aéreas de *Sida planicaulis* Cav. (Figura 1) foram coletadas no bairro Eucalipto (Cuité-PB) em abril de 2014. A identificação botânica foi realizada pelo botânico Prof. Dr. Carlos Alberto Garcia Santos, havendo uma exsicata da espécie depositada no Herbário do Centro de Educação e Saúde sob o código 201, na Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus Cuité-PB.



Figura1: *Sida planicaulis* Cav.

2.3. Preparo do material vegetal e obtenção do extrato etanólico bruto (EEB)

As partes áreas coletadas foram submetidas a secagem à temperatura ambiente e posteriormente triturada em moinho mecânico, fornecendo assim 1.800 g de pó. Este pó foi submetido ao processo de maceração em etanol 96% durante 48 h, com seis repetições. Em seguida, a solução extrativa resultante foi concentrada em evaporador rotativo, proporcionando 162,28 g do extrato etanólico bruto (EEB).

2.4. Particionamento do extrato etanólico bruto

O EEB foi diluído em MeOH:H_2O 7:3 e em seguida submetido a uma cromatografia líquido-líquido, utilizando solvente com gradiente crescente de polaridade, sendo eles: hexano, clorofórmio e acetato de etila. Desta forma, as respectivas soluções obtidas após o particionamento foram novamente concentradas em evaporador rotativo resultando em: 39,10g da fase hexânica, 21,68g da fase clorofórmica, 2,41g da fase acetato de etila e 67,96g da fase hidroalcoólica.

2.5. Armazenamento

Os produtos permaneceram armazenados em um frasco âmbar e mantidos sob refrigeração a uma temperatura inferior a 4°C, no Laboratório de Microbiologia. As diferentes soluções foram preparadas no momento das execuções dos ensaios, dissolvidas, quando necessário em DMSO (dimetilsulfóxido) e/ou Tween 80®.

2.6. Preparação das amostras de *Sida planicaulis* Cav. para testes antifúngicos

As amostras correspondentes a 0,01 g de EEB e das respectivas fases após o particionamento foram devidamente pesadas em balança analítica e, posteriormente, diluídas em 1 mL de água destilada estéril, obtendo assim, uma concentração inicial de 10.000 µg/mL. Em seguida foi adicionado Tween 80 e DMSO para a homogeneização das fases.

2.7. Produtos controle

Cetoconazol foi o antifúngico utilizado para o controle positivo na execução das metodologias, adquirido da Sigma-Aldrich®. As soluções também foram preparadas no momento de execução dos testes.

2.8 Fungos

Os fungos filamentosos utilizados nos ensaios de atividade biológica dos produtos naturais de *Sida planicaulis* e sintéticos incluem os isolados clínicos: *Trichophyton mentagrophytes; Microsporum canis; Rhizopus oryzae; Aspergillus flavus; Exophiala werneckii; Cladosporium* 2B3.

2.9 Meios de cultura

Os meios de cultura necessários aos ensaios microbiológicos foram os meios Ágar Sabouraud dextrose (ASD) e caldo Sabouraud dextrose (CSD) da Sigma Aldrich®, preparados de acordo com as instruções do fabricante. Para conservação das cepas e preparação do inóculo foi utilizado o ASD, também adquirido da Sigma Aldrich®. Os meios foram solubilizados com água destilada e esterilizados em autoclave, a 121 °C por 15 minutos.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

2.10. Inóculo

Na preparação do inóculo dos fungos filamentosos, primeiramente os isolados foram cultivados em meio ASD a 28 °C por 7-15 dias, para induzir a quantidade necessária de conídios. As colônias fúngicas recentes foram devidamente cobertas com salina estéril (NaCl 0,85% p/v), e as suspensões feitas por suaves agitações e raspagens com auxílio de uma alça de platina em "L". A mistura resultante de conídios e fragmentos de hifas foi retirada e transferida para tubos de ensaio esterilizados. Todas as suspensões foram agitadas por 2 minutos com auxílio do aparelho Vortex. Após agitação, cada suspensão teve sua turbidez comparada e ajustada àquela apresentada pela suspensão de sulfato de bário do tubo 0,5 da escala McFarland, a qual corresponde a um inóculo de aproximadamente 106 unidades formadoras de colônias/mL (UFC/mL).

2.11. Triagem microbiológica

A triagem microbiológica para avaliação do potencial antifúngico dos produtos foi realizada com base na técnica de difusão em meio sólido com discos de papel de filtro (Hadacek e Greger, 2000). A cada placa de Petri (90 x 15 mm) descartável e estéril, adicionou-se 20 mL do meio ASD fundido a 50 °C, esperou-se este se solidificar e foi semeada a suspensão do microrganismo (10^6 UFC/mL) com um *swab* estéril. Em seguida, discos de papel de filtro (*Sensiobiodisc* do Centro de Controle e Produtos para Diagnósticos Ltda – CECON/SP) embebidos com 20 µL do produto teste, foram depositados na superfície do meio de cultura. Todo o sistema ficou incubado a 28 °C por 7-15 dias. Os ensaios foram realizados em triplicata e o resultado expresso pela média aritmética dos halos de inibição obtidos. A atividade antifúngica foi considerada positiva quando a média dos halos de inibição foi superior ou igual a 10 mm de diâmetro.

2.12. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A determinação da CIM foi realizada pela técnica de microdiluição, utilizando placas de microdiluição contendo 96 cavidades com fundo em forma de "U" e em triplicata, apenas com aqueles produtos que apresentarem atividade antifúngica na triagem microbiológica (Souza et al., 2007b; Moreira et al., 2010). Essa etapa foi determinada conforme recomendações da norma técnica M38-A e M27-A2 do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) ambas publicadas em 2002.

Em cada orifício da placa de microdiluição foram adicionados 100 µL da substância teste diluída no meio CSD, em concentrações variando de 5000 µg/mL a 19,53 µg/mL. Em seguida, 10 µL da suspensão fúngica a $0{,}4x10^4$ a $5x10^4$ UFC/mL foram adicionados a cada orifício da placa contendo o meio com produto (Item 1, figura 2).

Um controle de viabilidade do microrganismo foi realizado colocando-se em determinadas cavidades 100 µL do meio CSD sem os produtos teste com microrganismos e controle de viabilidade do meio colocando-se apenas meio sem microrganismo (Item 2, figura 2).

Paralelamente, foi realizado o mesmo experimento com o antifúngico cetoconazol. Este foi dissolvido em dimetilsulfóxido (DMSO) e diluído no meio de cultura até atingir 0,03 a 16 µg/mL (Item 3, figura 2). Todas as placas foram seladas e incubadas a 28°C por 7-15 dias (Item 4, figura 2). Os valores de CIM foram determinados pela análise visual da inibição do crescimento em cada cavidade, comparando com o controle (ausente de drogas) (Item 5, figura 2).

Define-se a CIM para os produtos testados como a menor concentração capaz de inibir 100% o crescimento fúngico verificado nos orifícios. Os ensaios foram realizados em triplicata e o resultado expresso pela média geométrica dos resultados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação do Potencial Antifúngico

A ação antifúngica da espécie *Sida planicaulis* foi avaliada inicialmente na triagem microbiológica. Na tabela 1 encontram-se os valores dos halos de inibição sobre as cepas testadas. Observa-se que o extrato bruto e suas fases apresentaram atividade inibitória contra o fungo *Trichophyton mentagrophytes*, consideração evidenciada pelas zonas de inibição do crescimento fúngico compreendidas entre 15-36 mm de diâmetro, estes podem ser observados na figura 3.

As fases mais promissoras foram a clorofórmica e a hidroalcoólica, com valores

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

de 36 e 30 mm de diâmetro, respectivamente. Por outro lado, os outros microrganismos mostraram-se resistentes ao produto natural utilizado (Tabela 1).

O fungo filamentoso *T. mentagrophytes* assim como outros dermatófitos, tem a capacidade de digerir áreas queratinizadas no homem, em outros mamíferos e aves, é um dos dermatófitos mais comumente encontrado no homem, nos animais e no solo, sendo um dos principais agentes etiológicos da onicomicose (Oyeka, 2000; Tabata et al., 2015). Os dermatófitos são fungos queratinofílicos capazes de colonizar unha, cabelo e epiderme normalmente resultando em infecções superficiais como *Tinea corporis* e onicomicose. Ocasionalmente, esses fungos podem penetrar em camadas mais profundas da pele causando mais sintomas inflamatórios, como abscessos e ulcerações (Drakensjö et al., 2017).

Resultados semelhantes foram encontrados por Nunes et al. (2006) que relataram a eficácia do óleo essencial de *Sida cordifolia* em inibir o crescimento de três bactérias e sete fungos patogênicos pelo método de difusão em disco. Entre os fungos filamentosos testados a concentração do óleo essencial a 32% foi capaz de inibir o crescimento apenas de *T. mentagrophytes* com halos de inibição com média de 10 mm de diâmetro. Um estudo realizado por Karou et al. (2012) não encontrou atividade antifúngica nos extratos de *S. alba*, somente efeito antibacteriano.

Estudo realizado por Rai et al. (2017) demonstrou atividade antifúngica e antibacteriana do extrato clorofórmico de *Sida rhombifolia* Linn em diferentes concentrações frente aos microorganismos *Aspergillus niger* e *Haemophilus influenzae.*

Poucos estudos sobre a atividade antifúngica de espécies de *Sida* contra fungos filamentosos foram encontrados na literatura pesquisada, a grande maioria dos dados obtidos tratavam-se da avaliação das espécies contra fungos leveduriformes e bactérias, o que impossibilitou maiores comparações com o presente trabalho.

Os estudos fitoquímicos descritos para algumas espécies do gênero *Sida* mostraram que dentre os componentes químicos responsáveis pela atividade antimicrobiana destacam-se os alcaloides, flavonoides, polifenois e saponinas (Breugés e Reza, 2007; Karou et al., 2007; Lopes et al., 2008), sendo estes correspondentes as classes de metabólitos secundários (alcaloides, flavonoides e saponinas, além de esteroides, triterpenos e taninos) identificados na triagem fitoquímica das partes aéreas de *S. planicaulis* (Sobreira et al., 2018). A análise destes dados permite sugerir que a inibição do fungo *T. mentagrophytes* possa estar relacionada com à presença destes constituintes encontrados no extrato etanólico bruto e fases da espécie em estudo, uma vez que estes foram capazes de inibir crescimento do microrganismo.

3.2. Determinação da Concentração Inibitória Mínima

Considerando os bons resultados que a espécie *Sida planicaulis* apresentou contra o fungo *T. mentagrophytes* no teste de difusão em meio sólido, foi verificada a menor concentração desse produto capaz de inibir o crescimento fúngico. Estudos para determinação da CIM com extratos de *S. planicaulis* são inéditos na literatura e, estes apresentaram valores de 625 µg/mL a 10.000 µg/mL, os quais podem ser observados na tabela 2.

Tabela 2: *Valores da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do extrato bruto e fases de Sida planicaulis e cetoconazol expressos em µg/mL sobre o fungo T. mentagrophytes.*

	EEB	F. hexânica	F. H.A.	F. acetato de etila	Fase clorofórmica	Cetoconazol
CIM	625	2.500	10.000	2.500	625	1

F. H. A.: Fase hidroalcoólica.

O extrato etanólico bruto e a fase clorofórmica da espécie vegetal em estudo apresentaram valor de CIM igual a 625 µg/mL, a fase hexânica e acetoetílica com 2.500 µg/mL e a fase hidroalcoólica com 10.000 µg/mL, porém nenhum se mostrou mais ativa do que o controle positivo cetoconazol (CIM = 1 µg/mL), isto pode ser consequência da baixa concentração das substâncias encontradas no extrato e nas fases, diferentemente do cetoconazol, que apresenta a substância já isolada.

Estudo realizado por Runyoro et al., em 2017, utilizando extrato metanólico das folhas e do caule de *Euphorbia cotinifolia* apresentou

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

atividade antifúngica contra *Trichophyton rubrum, T. mentagrophytes* e *Aspergillus niger*, com valores de CIM variando de 2,5 até 5 mg/ml, resultados melhores do que os encontrados nesse estudo.

Os pesquisadores Massiha e Muradov em 2015, realizaram um estudo com diferentes espécies vegetais, incluindo *Ginkgo biloba*, *Calendula officinalis e Althea officinalis*, comprovando o efeito antifúngico dos extratos metanólicos frente aos microrganismos *M. canis, T. mentagrophytes, T. rubrum e E. floccosum,* com CIM indo de 0,2 mg/ml até 7,8 mg/ml.

De acordo com Sartoratto et al., (2004) uma substância para possuir uma forte atividade antimicrobiana deve apresentar inibição nas faixas de 50 a 500 µg/mL, uma atividade moderada de 600 a 1500 µg/mL e fraca atividade substâncias acima de 1500 µg/mL. Sendo assim, um bom candidato a antifúngico deve promover a inibição da cepa testada em baixas concentrações, possuindo uma forte atividade. Embora o *T. mentagrophytes* tenha apresentado sensibilidade ao extrato etanólico bruto e as frações da espécie de *Sida planicaulis*, esta faixa situou-se entre 625 a 10.000 µg/mL, revelando assim uma atividade moderada.

CONCLUSÕES

Conclui-se que o fungo *T. mentagrophytes* foi sensível ao extrato etanólico bruto e fases de *Sida planicaulis* Cav. (Malvaceae), porém as concentrações utilizadas das partes aéreas da espécie em que se obteve inibição encontraram-se entre 625 a 10.000 µg/mL, não sendo consideradas adequadas para o desenvolvimento de um novo fármaco para este fungo nas condições realizadas. Os demais fungos testados neste trabalho se mostraram resistentes, porém novos estudos utilizando partes diferentes desta espécie, como as raízes ou caule podem ser realizados, permitindo inferir que, no futuro, novas avaliações sobre a atividade antifúngica desta espécie possa levar a resultados mais promissores para a produção de novo antifúngico.

REFERÊNCIAS

1. Alencar, M. Y. A.; Costa, D. A.; Souza, J. B. P.; Alencar, M. C. B.; Carmo, E. S. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*. **2015**, 10, 170 – 177.

2. Brugés, K.; Reza, M. T. R. *Revista Colombiana de Biotecnologia*. **2007,** 9, 5-13.

3. Costa, T. R.; Fernandes, O. F. L.; Santos, S. C.; Oliveira, C. M. A.; Lião, L. M.; Ferri, P. H.; Paula, J. R.; Ferreira, H. D.; Sales, B. H. N.; Silva, M. R. R. *Journal Ethnopharmacology.* **2000**, 72, 111-117.

4. Costa, D. A.; Silva, D. A.; Cavalcanti, A. C.; Medeiros, M. A. A.; Lima, J. T.; Cavalcante, J. M. S.; Silva, B. A.; Agra, M. F.; Souza, M. F. *Química Nova.* **2007,** 30, 901-903.

5. Drakensjö, I. T.; Vassilaki, I.; Bradley, M. *Actas dermo-sifiliograficas*. **2017**, 108, 6-8.

6. Duarte, M. C. T. *Revista MultiCiência: construindo a história dos produtos naturais*. **2006**, 7, 17.

7. Karou, S. D.; Nadembega, M. C. W.; Ilboudo, D. P.; Ouermi, D.; Gbeassor, M.; Souza, C.; Simpore, J. *African Journal of Biotechnology.* **2007***,* 6, 2953-2959.

8. Karou, S. D.; Tchacondo, T.; Tchibozo, M. A. D.; Anani, K.; Ouattara, L.; Simpore, J.; De Souza, C. *Pharmacognosy research.* **2012**, 4, 116.

9. Lee, J. H.; Yang, H. Y.; Lee, H. S.; Hong, S. K. *Journal Microbiology Biotechnology.* **2008**, 18, 497 - 502.

10. Leitão, M. M., de Souza, R. P. D. S., de Lima, C. C. F.; Macorini, L. F. B. *Perspectivas Experimentais e Clínicas, Inovações Biomédicas e Educação em Saúde.* **2017**, *2, 58-61.*

11. Lopes, S. S.; Menor, J. C. A. S.; Arcanjo, D. D. R.; Oliveira, R. C. M.; Chaves, M. H.; Coelho, L. F. L.; Soares, M. J. S. In: **Anais da III Reunião Regional da Federação de Sociedades de Biologia Experimental,** Fortaleza, Brasil, 2008.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

12. Massiha, A.; Muradov, P. Z. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, **2015**, *17*, 10.

13. Nunes, X. P.; Maia, G. L. A.; Almeida, J. R. G. S.; Pereira, F. O.; Lima, E. O. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. **2006**, 16, 642-644.

14. Oliveira, D. F.; Lima, L. J. F.; Costa, D. A.; Alencar, M. C. B.; Carmo, E. S. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*. **2015**, 10, 88-100.

15. Oyeka, C. A. *Revista Iberoamericana de Micologia.* **2000**, 60-31.

16. Passos, X. S.; Santos, S. D. C.; Ferri, P. H.; Fernandes, O. D. F. L.; Paula, T. D. F.; Garcia, A. C. F.; Silva, M. D. R. R. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.* **2002***,* 35, 623-627.

17. Peres, M. T. L. P.; Simionatto, E.; Hess, S. C.; Bonani, V. F. L.; Candido, A. C. S.; Castelli, C.; Poppi, N. R.; Honda, N. K.; Cardoso, C. A. L.; Faccenda, O. *Química Nova*. **2009**, 32, 897 – 901.

18. Rai, A.; Prabhu, S. N.; Udupi, V.; Basaviah, R.; Narayana, S. K. K. *Journal of Ayurveda Medical Sciences.* **2017**, 2, 269-73.

19. Runyoro, D. K. B.; Ngassapa, O. D.; Nondo, R. S. O.; Melkiory, P. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. **2017**, *9*, 63.

20. Santos, K. K. A.; Matias, E. F. F.; Almeida, T. S.; Costa, J. G. M.; Coutinho, H. D. M. *Cadernos de Cultura e Ciência.* **2010***,* 1, 53 – 65.

21. Sartoratto, A.; Machado, A. L. M.; Delarmelina, C.; Figueira, G. M.; Duarte, M. C. T.; Rehder, V. L. G. *Brazilian Journal of Microbiology.* **2004***,* 35, 275-280.

22. Sharon, C. A. C.; Sorrel, T. C. *Medical Journal of Australia.* **2007,** 187, 404.

23. Silva, M. V.; Costa, T. R.; Costa, M. R.; Ferreira, E. C.; Fernandes, O. F. L.;Santos, S. C.; Lião, L. M.; Ferri, P. H.; Paula, J. L.; Ferreira, H. D.; Silva, M. R. R. *Pharmaceutical Biology*. **2001**, 39, 138-141.

24. Silva, M. R. R.; Oliveira Junior, J. G.; Fernande, O. F. L.; Passos, X. S.; Costa, C. R.; Souza, L. K. H.; Lemos, J. A.; Paula, J. R. *Blackwell Publishing Ltd, Mycoses.* **2005***,* 48, 172-175.

25. Silva, R. L.; Melo, G. B.; Melo, V. A.; Antoniolli, A. R.; Michellones, P. R. T.; Zulocot, S.; Picinato, M. A. N. C.; Mota, C. A.; Silva, O. C. *Acta Cirúrgica Brasileira.* **2006***,* 21, 37-39.

26. Silva, A. C. O.; Oliveira, A. F. M.; Santos, D. Y. A. C.; Silva, S. I. *Biochemical Systematics and Ecology.* **2010***,* 38, 1035-1038.

27. Silva, L. L.; Oliveira, G. M. G.; Neto, M. J. *Revista Saúde e Meio Ambiente*. **2018**, *6*, 1-16.

28. Sobreira, A. L. C.; Oliveira, N. R.; Costa, D. A.; Carmo, E. S**.** *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*. **2018**, 13, 356 - 360.

29. Souza, L. K. H.; Oliveira, C. M. A.; FERRI, P. H.; Santos, S. C.; Oliveira Júnior, J. G.; Miranda, A. T. B.; Lião, L. M.; Silca, M. R. R. *Brazilian Journal of Microbiology.* **2002***,* 33, 247-249.

30. Tabata Y.; Takei-Masuda N.; Kubota N.; Takahata S.; Ohyama M.; Kaneda K.; Lida M.; Maebashi K. *Antimicrob Agents Chemother. **2015**,* 60, 1035-1039.

31. Vinche, A. D. L. **Atividade da liriodenina extraída de *Annona macroprophyllata* sobre isolados do gênero Paracoccidioides**. Tese (Doutorado em Doenças Tropicais). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Botucatu, SP, 2018.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 1: *Medida em milímetros dos halos de inibição do crescimento microbiano produzidos pelo extrato etanólico bruto de Sida planicaulis e suas fases.*

Cepas	EBB	F. Hex.	F. H. A	F. Ac. Et.	F. $CHCl_3$
Microsporum canis	0	0	0	0	0
Trichophyton mentagrophytes	20	24	30	15	36
Rhizopus oryzae	0	0	0	0	0
Aspergillus flavus	0	0	0	0	0
Exophiala werneckii	0	0	0	0	0
Cladosporium 2B3	0	0	0	0	0

F. Hex.: Fase hexânica; F. H. A.: Fase hidroalcoólica; F. Ac. Et.: Fase acetoetílica; F. $CHCl_3$: Fase clorofórmica.

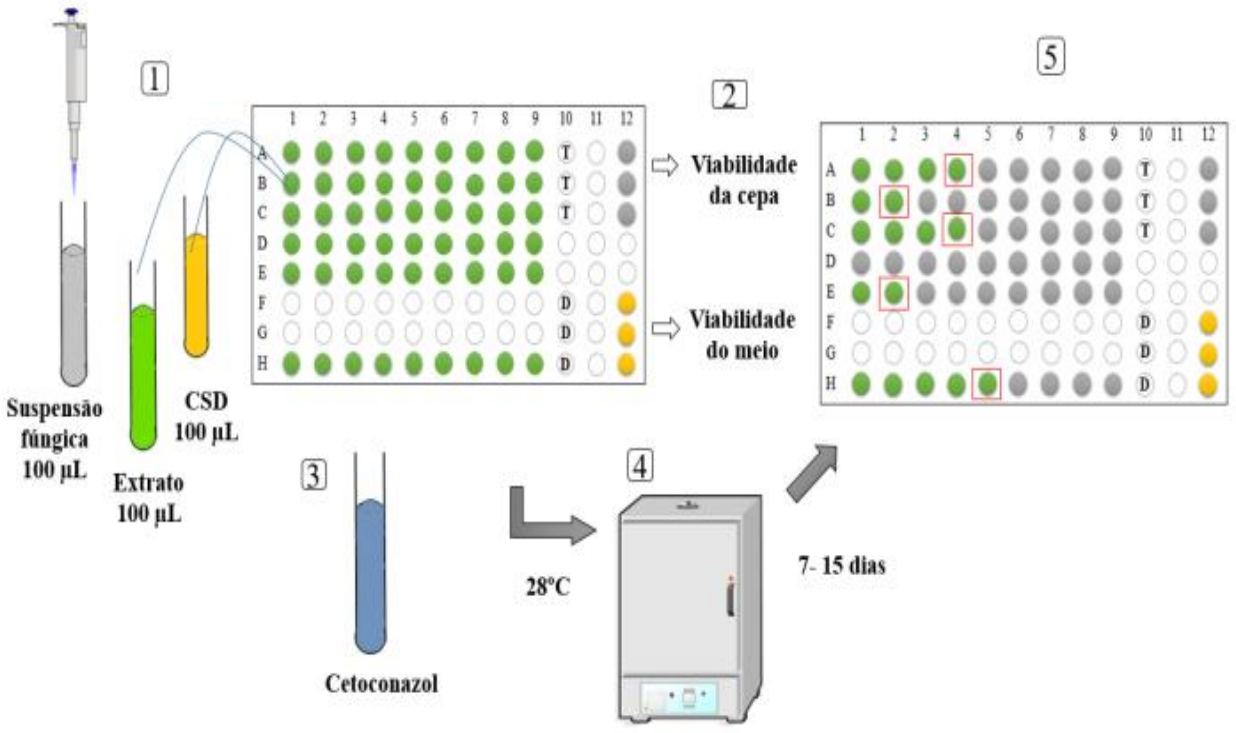


Figura 2: *Representação esquemática da determinação da CIM*.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

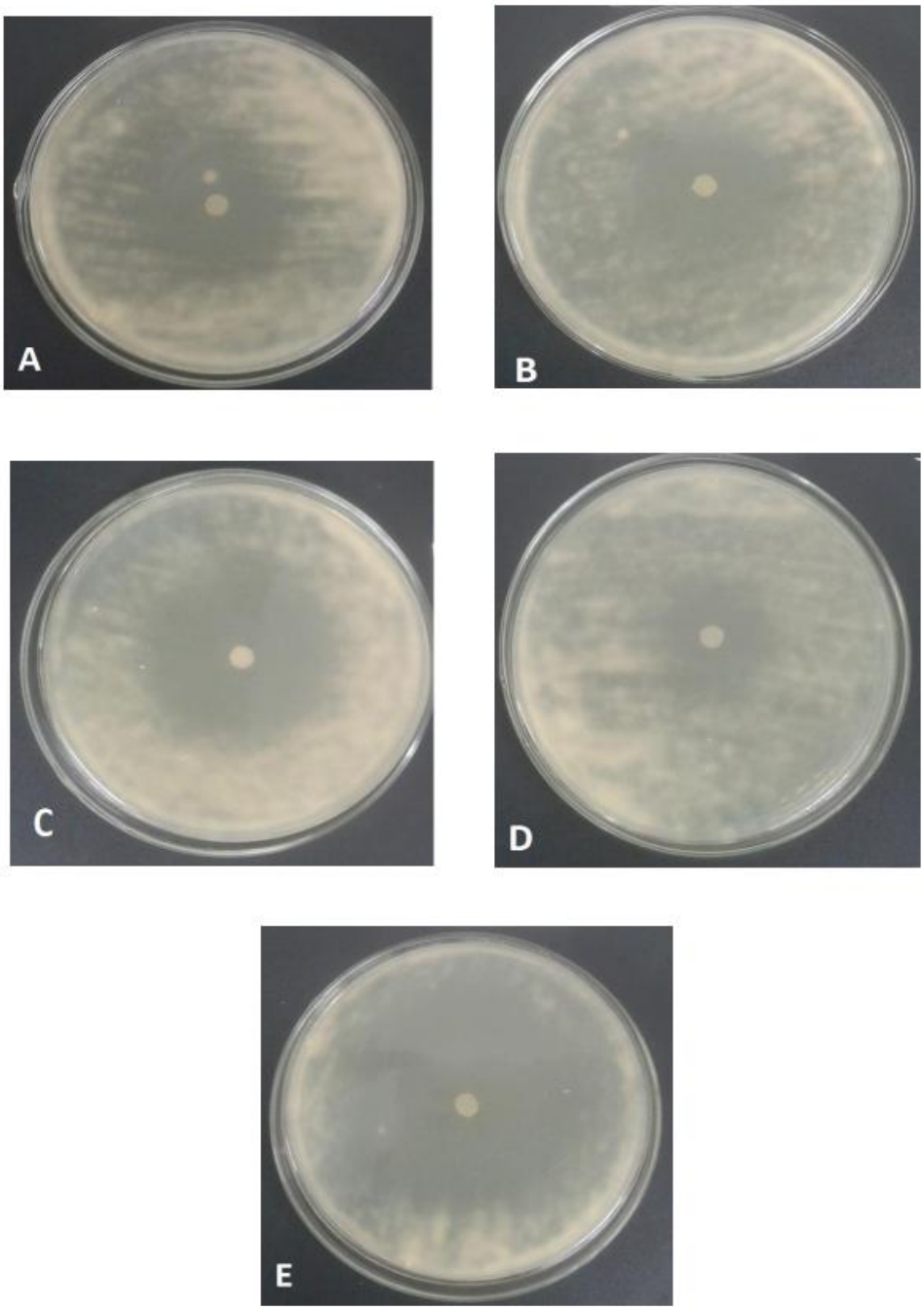


Figura 3: *Atividade antifúngica de Sida planicaulis sobre T. mentagrophytes: A – Extrato etanólico bruto; B – Fase hexânica; C – Fase hidroalcoólica; D – fase acetoetílica; E – Fase clorofórmica.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

DESENVOLVIMENTO DE PADRÕES DE VERIFICAÇÃO PARA ESCALAS BRINELL E ROCKWELL NO ENSAIO DE DUREZA

DEVELOPMENT OF VERIFICATION STANDARDS FOR BRINELL AND ROCKWELL HARDNESS TESTS

FABRICIO, Daniel Antonio Kapper[1*]; TREVISAN, Lisiane[2]; SARTORI, Cecília[1]
[1] Instituto Federal de Santa Catarina, Campus Chapecó.
Av. Nereu Ramos, 3450-D, CEP 89813-000, Chapecó – SC, Brasil
(fone: +55 49 3313 1245)

[2] Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul – IFRS, Campus Farroupilha
Av. São Vicente 785, CEP 95180-000, Farroupilha – RS, Brasil
(fone: +55 54 3260 2400)

** Autor correspondente*
e-mail: danielkapper@gmail.com

Received 162 November 2018; received in revised form 28 November 2018; accepted 29 November 2018

RESUMO

O ensaio de dureza é um dos ensaios mecânicos destrutivos mais utilizados pela indústria metal-mecânica. A garantia dos resultados medidos deve-se principalmente ao fator humano, que está envolvido nas etapas de verificação, ajuste e operação dos equipamentos de medição. Sendo assim, o objetivo principal deste artigo é projetar e construir padrões de verificação para as escalas Brinell (HB) e Rockwell (HRC) a partir de aços carbono baixa liga, submetidos a diferentes tipos de tratamento térmico. Para garantir a confiabilidade dos valores de dureza dos padrões de verificação, os mesmos serão submetidos a medições em equipamentos calibrados por laboratórios pertencentes à Rede Brasileira de Calibração (RBC). Os resultados mostraram valores semelhantes com base em dez medições realizadas sobre a superfície do padrão.

Palavras-chave: *Ensaio Mecânico; Dureza; Metrologia; Padrões de Verificação.*

ABSTRACT

The hardness test is one of the most important mechanical tests used by the metal-mechanical industry. The quality assurance of the measured results is mainly due to the human factor, which is involved in the verification, adjustment, and operation of the measuring equipment. Therefore, the main goal of this paper is to design and develop verification standards for Brinell (HB) and Rockwell (HRC) scales from low alloy carbon steels subjected to different types of heat treatment. In order to assure the reliability of the hardness values of the verification standards, they have been measured on equipment calibrated by laboratories belonging to the Brazilian Calibration Network (RBC). The results showed similar values based on ten measurements made on the standards surface.

Keywords: *Mechanical Testing; Hardness; Measurement; Verification Standards.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

O ensaio de dureza é utilizado na indústria para o controle de qualidade em diversos processos de fabricação metalúrgicos. Este controle através do ensaio de dureza pode ser feito na inspeção de materiais no recebimento ou durante as etapas de fabricação de um componente (GARCIA *et al*., 2000).

O ensaio de dureza pode ser considerado como a medida da resistência de um material à deformação plástica (CALLISTER, 2012). Vários fatores alteram os valores de dureza medidos: composição química do material, microestrutura, existência (ou não) de camada superficial, entre outros; além de parâmetros voltados ao próprio ensaio, tais como: etapa de preparação da superfície, paralelismo, aplicação da carga e leitura da endentação realizada na superfície do material (SOUZA, 2000; ABNT, 2008).

O objetivo principal deste trabalho é desenvolver 4 padrões de verificação para a escala HRC (Rockwell C) e HB (Brinell) para o uso na verificação dos valores de dureza pelos durômetros existentes no Instituto Federal do Rio Grande do Sul – Campus Farroupilha.

Para que se possa construir o padrão de verificação, será necessário em primeiro lugar escolher o material metálico a partir do qual serão construídos os padrões. Partindo do material metálico, será necessária a realização da etapa de usinagem e tratamento térmico de cada um dos materiais, etapa muitas vezes limitadas pelos equipamentos disponíveis.

O uso de padrões de calibração e de verificação podem ser confundidos facilmente. Os padrões de calibração servem para que possam ser feitos ajustes no equipamento para que a leitura do durômetro se aproxime do valor descrito no certificado do padrão de calibração (THOLEN, 2011; GUM, 2012). Já os padrões de verificação são usados diariamente para a verificação dos valores medidos pelo durômetro. Portanto, os padrões de verificação não servem para ajustar o equipamento (SILVA NETO, 2012).

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho pretende desenvolver uma pesquisa quantitativa com uma abordagem experimental, onde se determina um objeto de estudo, selecionam-se as variáveis que seriam capazes de influenciá-lo, definem-se as formas de controle e de observação dos efeitos que a variável produz no objeto.

Como há uma grande combinação entre valores de dureza, escala e materiais metálicos que podem ser utilizados no ensaio de dureza, optou-se pela escolha dos padrões de verificação com base nos materiais metálicos disponíveis para a realização deste trabalho.

As escalas HRC (Rockwell C) e HB (Brinell) foram escolhidas em função das escalas trabalhadas em sala de aula com os alunos dos cursos técnicos e de graduação do Instituto Federal do Rio Grande do Sul. Assim, este trabalho está relacionado à interação pesquisa-ensino, mostrando assim a importância do conhecimento de metrologia nas disciplinas de graduação do curso superior em engenharia mecânica. Através do uso dos padrões de verificação, os alunos podem verificar o funcionamento e estimar o erro de medição existente em uma medição realizada em um componente metálico qualquer.

Para a realização da parte experimental foi realizada a confecção de corpos de prova de dureza em aço carbono SAE 1020 e em um aço ferramenta de médio teor de carbono DIN 1.2367. A composição química do material metálico usado está de acordo com descrito pela norma ABNT NBR NM 87 (ABNT, 2000).

Estes aços foram escolhidos devido à grande possibilidade de combinação entre dureza e tratamento térmico que permite uma ampla gama de valores de dureza dentro da mesma escala. As dimensões escolhidas para a construção dos padrões estão apresentadas na Figura 1.

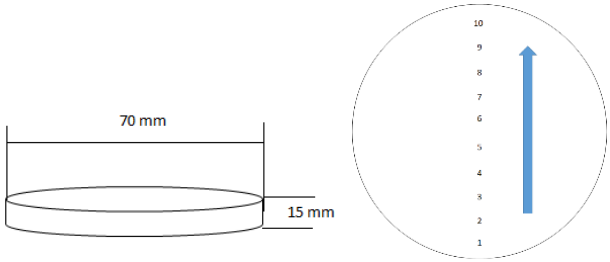


Figura 1. *Dimensões do padrão de verificação e direção das medidas realizadas.*

As dimensões foram escolhidas em função do material disponível, seguindo a recomendação da norma ISO 6508-3 (ISO, 2015), que especifica que os blocos de verificação para o ensaio de dureza devem ter espessura entre 6 e 16 mm, sendo que a espessura mínima aceita para aço é

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

de 12 mm. Além disso, os blocos de verificação devem ser isentos de magnetismo.

Foram confeccionados corpos de prova nos materiais descritos anteriormente, os quais foram usinados e fresados em máquina fresadora universal. Posteriormente ao processo de fresa, o material foi usinado em uma retífica com pastilha de diamante para melhor acabamento superficial.

O valor de rugosidade superficial não se altera nos valores de dureza dependendo do nível de força aplicado. A etapa de polimento é suficiente para escala Rockwell C e para escala com uso de indentador esférico se a força aplicada for menor que 100 kgf (LOW, 2001).

Após o processo de usinagem, os corpos de prova foram submetidos aos tratamentos térmicos de normalização, têmpera e revenimento:

- Para o material SAE 1020 foi realizado o processo de normalização com aquecimento até 900°C e resfriamento lento ao ar.
- Para o aço ferramenta médio carbono o mesmo foi temperado em forno a vácuo em 1020ºC e resfriado em nitrogênio com uma pressão de 3 bar.
- Após o aquecimento e resfriamento, a amostra em aço ferramenta DIN 1.2367 foi revenida em duas temperaturas, de 600°C e 300°C, atingindo as durezas de 38 e 55 HRC, respectivamente.

Em função da variabilidade do processo de fabricação dos padrões por tratamento térmico (composição química, tamanho de grão, temperaturas de trabalho, atmosfera, equipamentos de medição de dureza), é possível observar diferenças entre os valores reais e de projeto de dureza para os padrões fabricados.

A incerteza de medição dos valores de dureza foi calculada segundo o Guia para a Expressão da Incerteza de Medição (JCGM, 2008), utilizando como apoio o Guia da Rede Metrológica do Rio Grande do Sul (RMRS, 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de dureza após a etapa de tratamento térmico para os materiais podem ser visualizados na Tabela 1.

Tabela 1. *Valores projetados de dureza em função da etapa de tratamento térmico.*

Material	Tratamento térmico	Intervalo projetado
SAE 1020	Recozido	180 - 200 HB
SAE 1020	Normalização	260-280 HB
DIN 1.2367	Têmpera e revenimento	51- 52 HRC revenido 300°C
DIN 1.2367	Têmpera e revenimento	36- 39 HRC revenido 650°C

O aço SAE 1020 apresentou valores entre 95 e 110 HRB após o tratamento de normalização, o que indica uma dureza maior relativa ao mesmo material quando comparado ao estado recozido.

Os resultados para o aço DIN 1.2367 apresentaram faixas distintas de dureza após o revenimento em função das diferentes temperaturas de revenimento adotadas experimentalmente. O objetivo dessa variação é criar duas faixas de dureza distintas para o mesmo material e poder qualificar duas faixas de dureza Rockwell com o mesmo aço tratado termicamente.

Os resultados do perfil de dureza aplicado nos corpos de prova para cada material mostraram uma média e incerteza conforme os resultados da Tabela 2 para os padrões da escala Rockwell C e, a Tabela 3 para os padrões da escala Brinell.

As medidas foram realizadas em um durômetro calibrado de um laboratório universitário acreditado segundo a ABNT NBR ISO/IEC 17025 (ABNT, 2017).

Tabela 2. *Valores de dureza obtidos experimentalmente para escala Rockwell C.*

Medida	Padrão 35 HRC	Padrão 56 HRC
1	33,2	44,9
2	34,5	53,2
3	35,8	53,5
4	35,6	53,5
5	35,3	53,0
6	35,5	53,3
7	35,2	53,6
8	35,7	54,1
9	35,2	53,5
10	35,8	54,2
Média	35,18	52,69
Incerteza	0,83	2,89

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 3. *Valores de dureza obtidos experimentalmente para escala Brinell.*

Medida	Padrão 200 HB	Padrão 280 HB
1	197	286
2	197	236
3	198	274
4	199	283
5	199	242
6	196	276
7	198	251
8	198	290
9	200	287
10	198	288
Média	198,00	271,30
Incerteza	1,05	18,59

Para a escala HRC, as medições foram realizadas em durômetro com esfera de 2,5 mm e carga de 187,5 kgf, com uso de um padrão primário. O durômetro foi submetido a medidas com padrão primário de 46,3 HRC, estando dentro do valor aceitável pelo sistema de qualidade do laboratório escolhido.

Já para a escala Brinell, foi utilizado um durômetro semi-automático com esfera de 2,5 mm de diâmetro e carga de 187,5 kgf por 15 segundos. A calibração do durômetro foi realizada com o uso de um padrão com 207 HB e incerteza expandida de 4,5 HB a um nível de confiança de 95%.

É importante ressaltar que os corpos de prova foram submetidos ao tratamento térmico sob o mesmo equipamento (forno com aquecimento e atmosfera controlável) e também sob a mesma corrida (mesmo lote) oriundo do processo siderúrgico. Assim, minimizam-se fontes de incerteza oriundas do tratamento térmico (variações de temperatura entre ciclos de tratamento). Além disso, são minimizadas variações de composição química entre corpos de prova.

Em relação aos resultados apresentados na Tabela 2, o valor do desvio padrão do padrão de 280 HB representa 7,55% do valor médio, enquanto para o padrão de 200 HB, o desvio-padrão representa 0,58% do valor médio. A dispersão entre os resultados experimentais representa a maior fonte de incerteza de medição no ensaio de dureza, os valores de desvio padrão estão ligados aos valores de incerteza de medição.

A incerteza de medição foi determinada a partir das seguintes fontes: desvio padrão experimental, com distribuição de probabilidade normal; incerteza herdada do certificado de calibração, também com distribuição de probabilidade normal; e a resolução do identador, com distribuição de probabilidade retangular. A incerteza combinada foi expandida para uma probabilidade de abrangência de 95%.

O valor de uniformidade (U_{rel}) aceito pela norma ISO 6506-1:2017 (ISO, 2017a) mostra que o valor deve seguir norma ISO 6506-2:2017 (ISO, 2017b) para as realizações das medidas de dureza, com temperatura entre (23 ± 5) °C.

A uniformidade é determinada em função da repetitividade, e esta deve estar dentro do valor determinado em função do intervalo de dureza, conforme descrito na Tabela 4. Os valores descritos na Tabela 4 são valores de uniformidade para padrões primários construídos para serem utilizados ensaios de dureza. Seus valores aceitáveis dependem da escala de dureza que está sendo analisada.

Tabela 4. *Valores de uniformidade dos padrões calculados a partir dos resultados obtidos no ensaio de dureza HRC.*

Uniformidade	35 HRC	56 HRC	200 HB	280 HB
U_{rel} (%) calculado	7,4	17,7	2,02	19,90
U_{rel} (%) máximo aceito pela norma	1,0 a 0,4 HRC		2,5	2,0

O teor de uniformidade encontrado pelos valores medidos depende da dispersão dos resultados e também da qualidade superficial do padrão. A rugosidade superficial do padrão não foi considerada neste projeto. No entanto, conforme descrito em EURAMET (2007), a rugosidade superficial é fundamental para que seja possível obter resultados com reprodutibilidade aceitável.

Os valores demonstrados na Tabela 3 mostram que os padrões construídos por esta metodologia não são aceitáveis para ser utilizados como padrões primários, o que não impede que sejam utilizados como padrões de verificação, objetivo deste trabalho.

Observa-se que o padrão de 200 HB encontra-se mais próximo ao padrão primário. O material metálico utilizado para este padrão foi apenas recozido, permitindo assim que a microestrutura formada seja mais uniforme, reduzindo assim a dispersão entre os resultados.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

CONCLUSÕES

Este trabalho descreveu a metodologia usada na construção de padrões de verificação para escalas de dureza Brinnel e Rockwell para duas faixas de valores. Os padrões construídos partiram de dois materiais metálicos amplamente utilizados pela indústria metalúrgica.

Esta metodologia se mostrou adequada para a elaboração de padrões de verificação, mas não para a construção de padrões primários de dureza. Esta conclusão foi possível através dos valores de uniformidade calculados para os valores medidos, sendo que os mesmos se encontram acima dos valores aceitáveis pela norma ISO 6506-2:2017 (ISO, 2017).

Para indicar possível fontes de dispersão dos resultados obtidos, alguns fatores podem ser indicados, tais como a existência de inclusões e de elementos de liga residuais. Estes fatores relacionados à composição química podem acarretar na heterogeneidade da microestrutura (ISO, 2006).

Em relação à dispersão de dados, ainda que tenham sido realizadas 10 medições para cada padrão de verificação construído, não foi realizada a construção de diferentes padrões sob as mesmas condições indicadas. Seriam necessários no mínimo três corpos de prova sob as mesmas condições para garantir a reprodutibilidade da metodologia criada para a confecção de padrões de verificação para estas escalas (JCGM, 2012).

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao Instituto Federal do Rio Grande do Sul (IFRS), pelo fomento, conforme Edital PROPPI Nº 012/2016 – PIBIC-EM/IFRS/CNPq.

À Aços Favorit, empresa parceira neste projeto de pesquisa desenvolvido em conjunto com o CNPq, pelo fornecimento do material utilizado neste trabalho.

À Tramontina Cutelaria S.A. pelo auxílio na realização da etapa de tratamento térmico.

REFERÊNCIAS

1. ABNT NM ISO 6508-1:2008. Metallic materials - Rockwell hardness test Part 1: Test method (scales A, B, C, D, E, F, G, H, K, N, T). 2008.
2. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). ABNT NBR NM 87:2000. Aço carbono e ligados para construção mecânica - Designação e composição química. 2000.
3. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR ISO/IEC 17025: requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração. Rio de Janeiro: ABNT, 2017.
4. CALLISTER, W. D. Ciência e engenharia dos materiais: Uma introdução. 7 ed. LTC: Rio de Janeiro, 2012.
5. EURAMET. Guia para a estimativa da incerteza em medições de dureza. EURAMET/cg-16/v.01, Julho 2007.
6. EURAMET. Guia para estimativa da incerteza de medição em ensaios de dureza – DIMEC/gc-04/v.00. Tradução do documento EURAMET/CG-16/v.01. Guia de Calibração. Setembro de 2008.
7. Garcia, A.; Spim, J.; Santos, C. A. Ensaios dos materiais. 2 ed., LTC: Rio de Janeiro, 2012.
8. ISO 6508-3. Metallic materials: Rockwell hardness test. Part 3: Calibration of reference blocks. ISO, 2015.
9. ISO 6506-1:2017. Metallic materials -- Brinell hardness test -- Part 1: Test method. 2017a.
10. ISO 6506-2:2017. Metallic materials -- Brinell hardness test -- Part 2: Verification and calibration of testing machines. 2017b.
11. ISO Guide 35:2006. Reference materials - General and statistical principles for certification. 2006.
12. JOINT COMMITTEE FOR GUIDES IN METROLOGY. Evaluation of measurement data: guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM). JCGM 100, 1. ed. Geneva: BIPM, 2008.
13. JOINT COMMITTEE FOR GUIDES IN METROLOGY. International vocabulary of metrology (VIM): basic and general concepts and associated terms. JCGM 200, 3. ed. Geneva: BIPM, 2012.
14. LOW, S. R. NIST Recommended Practice Guide: Rockwell Hardness of metallic materials. National Institute of Standards and Technology: 2001.
15. RMRS. RM 68 – Incerteza de medição: guia prático do avaliador de laboratórios.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Revisão 05. Porto Alegre: Rede Metrológica RS, 2013.
16. SILVA NETO, J. C. Metrologia e controle dimensional: Conceitos, normas e aplicações. Editora Campus: 2012.
17. SOUZA, S. A. Ensaios mecânicos de materiais metálicos. 5 ed. Editora Blucher: 2000.
18. THOLEN, D. Metrology in service of society: the role of proficiency testing. Accreditation and Quality Assurance. Berlin, v. 16, p. 603-605, 2011.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

CONCENTRAÇÃO DE ALUMÍNIO, FERRO E MANGANÊS EM RIOS URBANOS LOCALIZADOS EM ÁREA DE ABRANGÊNCIA DO AQUIFERO GUARANI EM LAGES - SC

CONCENTRATION OF ALUMINUM, IRON AND MANGANESE IN URBAN RIVERS LOCATED IN A COVERAGE AREA OF THE GUARANI AQUIFER IN LAGES - SC

LUNARDI, Willian Galdino[1]; SIEGLOCH, Ana Emilia[2]; RECH, Angela Fonseca[3]; MAFRA, Maria Sueli Heberle[4]; KEMPKA, Aniela Pinto[5,*]

[1] Universidade do Estado de Santa Catarina, Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais, Centro de Ciências Agroveterinárias Av. Luiz de Camões, 2090, Conta Dinheiro, cep 88520-000, Lages – SC, Brasil (fone: +55 48 99969 9556)

[2] Universidade do Planalto Catarinense (UNIPLAC), Av. Castelo Branco, 170, Universitário, cep 88509-900, Lages – SC, Brasil. (fone +55 49 3251 1022)

[3,4] Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), Rua João José Godinho,S/N, Morro do Posto, cep 88502-970 Lages – SC, Brasil. (fone: +55 49 3289 6400)

[5] Universidade do Estado de Santa Catarina, Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais, Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química, Rua Fernando de Noronha, BR 282 Km 573,7 cep 89870-000, Pinhalzinho – SC, Brasil. (fone: +55 49 2049 9594; fax: +55 49 2049 9593)

** Autor correspondente*
e-mail: aniela.kempka@udesc.br

Received 16 November 2018; received in revised form 27 November 2018; accepted 29 November 2018

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a concentração de alumínio (Al), ferro (Fe) e manganês (Mn) na água e no sedimento de rios urbanos (Carahá, Caveiras e Ponte Grande) da serra, na cidade de Lages, Santa Catarina, localizada em área de abrangência do Aqüífero Guarani. As amostras de água e sedimento foram coletadas entre maio e outubro de 2016 em três rios urbanos, seguindo um gradiente de perturbação ambiental. Para a extração dos metais presentes na amostra, foram utilizados os métodos 3030 - *Standard Methods of Water and Wastewater* (2005) para as amostras de água e ISO 11.466 (1995) para as amostras de sedimento. A quantificação dos metais foi realizada através de um espectrômetro de alta resolução de absorção atômica, com automação de chama (acetileno-ar ou óxido nitroso-ar). Para avaliar a quantificação, utilizou-se um material certificado (SRM 2709a - San Joaquin Soil - NIST). Nas amostras de água foram encontradas concentrações de Mn acima da classe III, definidas pela Resolução 357/05 do Conselho Nacional do Meio Ambiente - Brasil. A matriz de correlação de Pearson mostrou correlação positiva entre as variáveis Al/Fe, Fe/Mn e Al/Mn no sedimento e Fe/Mn na água. Para o sedimento, foram encontradas altas concentrações de Al, Fe e Mn em algumas das amostras. Pelos resultados encontrados, evidencia-se aumento na concentração de Al e Fe no sedimento do rio Carahá, e concentrações de Al, Fe e Mn no sedimento do rio Ponte Grande, nos pontos localizados em Lages - SC.

Palavras-chave: *água, sedimento, metais, meio-ambiente*.

ABSTRACT

The objective of the current study was to evaluate the concentration of aluminum (Al), iron (Fe) and manganese (Mn) on water and on the sediment of urban rivers (Carahá, Caveiras and Ponte Grande) in Lages, located on the mountain region of Santa Catarina, placed in a coverage area of the Guarani Aquifer. The water and sediment samples were collected between May and October of 2016 in three urban rivers, following an environmental disturbance gradient. For the extraction of the metals present on the sample, it was used the methods 3030 - Standard Methods of Water and Wastewater (2005) for the water samples and ISO 11,466 (1995)

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

for the sediment samples. The quantification of metals was performed through a high-resolution spectrometer with atomic absorption, with a flame automation (acetylene-air or nitrous oxide-air). To evaluate the quantification, it was used a certified material (SRM 2709a - San Joaquin Soil - NIST). On the water samples were found concentrations of Mn above of class III, defined by the Resolution 357/05 of the Environment National Board-Brazil. The Pearson correlation matrix showed a positive correlation between the variables Al/Fe, Fe/Mn e Al/Mn on sediment and Fe/Mn on water. For the sediment, it was found high concentrations of Al, Fe, and Mn in some of the samples. By the results found, it is evinced an increase in the concentration of Al and Fe on the Carahá river sediment, and concentrations of Al, Fe, and Mn on the Ponte Grande river sediment, on the spots located at Lages - SC.

Keywords: *water; sediment, metals, environmental*.

INTRODUCTION

The Guarani Aquifer constitutes one of the most important hydrostratigraphic unities of the meridional portion of the South-American continent. The unity occupies an area superior to 1.000.000 Km^2 that extends itself through Argentina, Brazil, Uruguay, and Paraguay. In its northerly portion, it presents a great relevance for the public and private supplying.

At the mountain plateau, there are several upwelling areas and a direct recharge from the Guarani Aquifer, an important reserve of fresh water for Santa Catarina state. However, at the city of Lages, this water resource is at the risk of contamination by the productive processes, irregular occupation, the outflow of not-treated effluents and improper disposal of residues on the outflow areas (Mazzolli and Ehrhardt-Brocardo, 2013) and it might contain metallic pollutants.

The metallic pollutants have been receiving considerable attention because they have a low biodegradability, they're transported by the rivers and they are absorbed with the capacity of sediments to associate themselves to the geological materials of the original draining bay (Bordon *et al.*, 2011; Paula Filho *et al.*, 2014).

In Brazil, due to the several existing geological formations, studies about the accumulation of metals have been aiming to establish the geochemical basis to evaluate if the origin is anthropogenic or natural. Determine the natural levels of metals is essential for the precise evaluation of the degree in which a certain metal has been enriched on the environment. Evaluations like this provide an objective basis for the decision taking from the public departments and for the proper use of natural resources (Reimann *et al.*, 2005; Paula Filho *et al.*, 2014). The analysis of metals in sediments deposited on the course of aquatic systems is an important environmental tool to evaluate and monitor the water quality because the sediment can accumulate higher concentrations of toxic metals than the ones at the water column. The metals present on the sediments and on the water, can occur on the form of solutions, mineral compounds, adsorbed in inorganic and organic particles or even accumulated in aquatic organisms (Semensatto-Jr. *et al.*, 2007), which makes a persistent contamination. This way, the practices to monitor sediments are essential to protect the aquatic ecosystems (Bordon *et al.*, 2011, Yuan *et al.*, 2014, Coringa *et al.*, 2016).

Metals such as Al, Fe, and Mn are found in significant concentrations in superficial waters according to the abundance of the origin material. This way, the levels of these elements in superficial waters can increase during raining periods due to the erosion on the rivers' margins. The concentration of iron on the environment can also increase with the metallurgical industrial effluents and coagulants made on iron basis, used at water and effluents treatment plants. The aluminum and its salts are used on the water treatment, such as food additives, manufacturing of cans, tiles, aluminum foil, on the pharmaceutical industry, among others. The manganese and its compounds are used on the steel industry, metal alloys, glasses, cleanliness oxidants, fertilizers, varnishes and veterinary supplements (CETESB, 2017).

The manganese is an essential element found on the land crust and on the locations where the oxygen is dissolved and the potential redox is low, where lower levels of Mn can be found on its reduced dissolved state (Mn(II)). The higher concentrations of Mn are found on the underground waters, while the superficial water rarely presents high concentrations. Higher concentrations of Mn on the potable water that exceed the value of 0,4 mg L^{-1} were reported in several studies (Joode *et al.*, 2016). The excess of

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Mn can cause talking and memory disorders and degenerative diseases (Riguetti *et al.*, 2015).

The metallic ions can be bio-accumulated by aquatic organisms, such as invertebrate and fishes, presenting a threat to the human health because of the food chain or by the own ingestion of water. The accumulation of these elements over time causes damages to the kidneys, liver and to the nervous system when they're found above the tolerance levels (Goher *et al.*, 2015).

In face of what's exposed, the goal of the current study was to determine the concentration of three metals, Al, Fe, and Mn, in superficial waters and sediments of rivers in the Caveiras river bay, located in an urban area in the city of Lages-SC.

MATERIAL AND METHODS

2.1. Study region

The Caveiras river bay is in Santa Catarina state, with the nascent above of 1.300 m on the general mountain region. The study region was Lages-SC (latitude: -27º 48' 58" S, Longitude: -50º 19' 34" W, altitude: 916M), which has nearly 158.000 inhabitants, the average temperature of 16°C and an annual average precipitation of 1.236,2mm, well distributed over the year.

The city of Lages is located at the mountain plateau of Santa Catarina. In this region, especially on the cities of Urubici, Painel, Lages, São José do Cerrito, Correia Pinto and Ponte Alta, there were upwelling areas and direct recharge from the Guarani Aquifer, representing, thus, a strategical reserve for the water supply for Santa Catarina state. Scheibe and Hirata (2008) emphasize the occurrence of an indent upwelling of sandstones from the Botucatu Formation (Matrix of the Guarani Aquifer), occasioned by the over-elevation of the Lages Dome, where volcanic rocks from the General Mountain recovers sandstones at the west of Lages.

For this study, it was selected nine sampling points located at the Caveiras river bay (affluent of the Canoas river), located in areas covered by the Guarani Aquifer in urban areas of Lages (Figure 1).

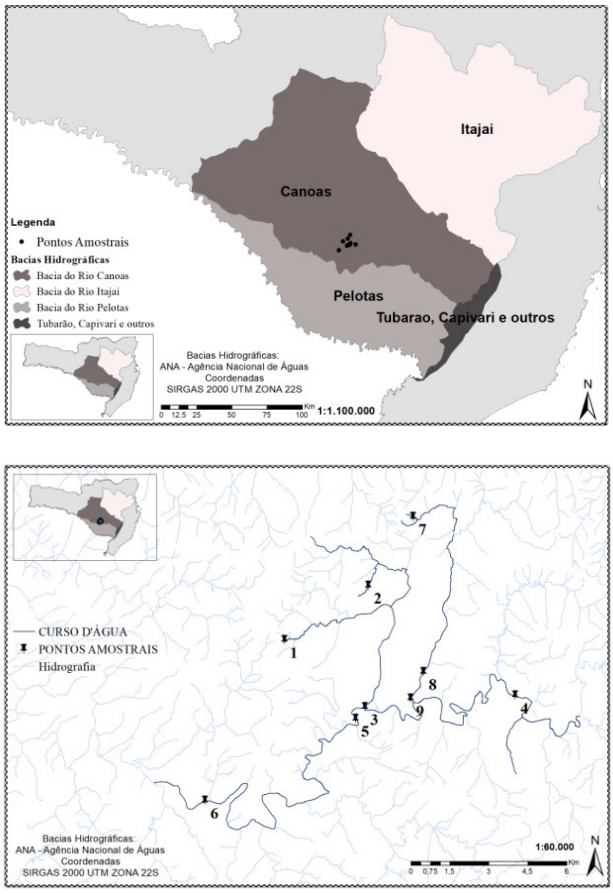


Figure 1. *Localization of the sampling points (P1 to P9), where it was collected the samples of superficial water and sediment to determine the physicochemical characteristics and aluminum, iron and manganese levels.*

From these, three points (P1, P2, and P3) were collected at Carahá river, being, respectively, a point near the nascent (upstream), one in the central passage and another on the river mouth (downstream). Equally, three points (P4, P5, and P6) were sampled in Caveiras river, being one point to the upstream, one point after receiving the contribution from the Carahá river (center) and other at the downstream at Lages. The points (P7, P8, and P9) represent the samples collected in the Ponte Grande river (upstream, center and downstream). From these, the points (P1 and P7) are in a permanent preservation area and were used as a control.

2.2. Collection and extraction of the elements on the water and sediment samples

The water and sediment samples were collected in a period where there were not rains (at minimum five days before the collection) between April and October of 2016. In each point, it was

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

collected 0.5L of water in backwater passages, with the support of a polyethylene bottle containing one millimeter of nitric acid to preserve the sample. It was also collected sediments samples with the support of a stainless-steel drag at the depth of 0-0.1m. In each river, it was collected three sediment samples with a distance among each other of about 50m, and they were wrapped in plastic bags. After the collection, the water and sediment samples were transported to the lab in a thermal box. In each point was also determined the pH, dissolved oxygen (DO) and the electrical conductivity (EC) of the water with a multi-parameter probe and the texture of sediments by the pipette method.

For the extraction of elements on the water samples, it was used the procedure 3030 - Standard Methods of Water and Wastewater (2005). It was transferred a volume of 100 mL of the water sample to an Erlenmeyer, being added 5 mL of nitric acid, covering it with a clock glass to minimize the losses. After that, the sample was heated until a boiling state in a heating plate and was kept until the acquisition of the lowest volume possible (10-20 mL), avoiding that the sample was precipitated or became dry. Up next, it was heated with the addition of nitric acid until the acquisition of a clear solution. Finally, the solution was filtered and enlarged to 50 ml.

For the extraction of the sediment elements, it was adopted procedures described in ISO 11466:1995. Initially, the material was dried in a study at 60°C for five days and it then it was pulverized. A sub-sample of 0.75g was placed in a digestion tube. Up next, it was added to the tube with 0.05g of water followed by 7 mL of Aqua Regia. After that, the digestion tube was left to rest for 16 hours at the environment temperature and, next, it was heated at 90°C during 2 h. Finally, the solution was filtered at the environmental temperature and enlarged to 50 mL with an ultra-pure water, type 1 by ASTM D1193-06 standard.

2.3. Quantification of Al, Fe, and Mn

The quantification of the Al, Fe and Mn elements was performed in a high-resolution spectrometer with atomic absorption, with a flame automation (acetylene-air or nitrous oxide-air) from the model AA-6300 - Shimadzu.

As a minimal parameter for the detection limit, it was considered the first spot on the calibration curve. The efficient of quantification was verified through the analysis of a certified material, whose values can be verified in Table 1, where it was obtained values within the tracks established.

Table 1. *Quantification of Certified Material - Nist San Joaquin Soil 2709*

	Al (%)	Fe (%)	Mn (mg/kg)
Quantified	1.9 ±1.23	2.8 ±4.63	480 ±1.82
Total certificate material	7.5 ±0.06	3.5 ±0.05	538 ±17
Certified material leached	2 – 3.1	2.5 – 3.3	300–600

2.4. References values of Al, Fe, and Mn

In Brazil, the Resolution 357 of 2005 of CONAMA (National Board of the Environment-Brazil) dispose about the classification of the water bodies and environmental guidelines for its framework, as well as it established the conditions and standards for the release of effluents. The framework of fresh water is done through four classes by several organic and inorganic parameters. For a possible framework on the classes I, II, III and IV of CONAMA, the parameter of elements below must be within what was specified, including the other inorganic and organic parameters previewed by the Resolution (BRASIL, 2005). Article 15 establishes that it must be applied to the class II fresh water the conditions and standards of class I for the inorganic parameters (with an exception for the phosphorus). Due to this reason, classes I and II have the same concentration limits for Al, Fe, and Mn, as shown in Table 2.

The reference values for the contamination levels in sediments was proposed by Thomas (1987). The author established contamination levels for Fe and Mn, ranking the levels of these elements in pollution categories, being: non-polluted, moderately polluted and highly polluted, as it can be seen in Table 3.

Table 3: *Pollution categories for the Fe and Mn parameters established by Thomas (1987) in (mg/kg)*

Metal	Not polluted	Moderately polluted	Highly polluted
Fe	<17,000	17,000-25,000	>25,000
Mn	<300	300-500	>500

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

2.5. Results analysis

The results obtained on the water and sediment analysis were compared with the reference values, proposed by the Resolution 357 of CONAMA for the classification of water and by Thomas (1987) for the pollution levels on the sediment. The results were evaluated through a descriptive statistic and analysis of tendencies in column graphics to evaluate the concentration gradient of the parameters on the sense from the amount to the downstream. It was made Pearson correlations between the variables and a t-test to verify which correlations were significant among the level 5 elements and 1% with the support from the Assistant 7.7 Program.

RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Water's physicochemical properties

It is found, in Table 4, the results of the pH, dissolved oxygen (DO) and electrical conductivity (EC) for the water of the points P1 to P9 over the evaluated rivers.

The points P3, P8 and P9 presented DO levels inferior to 4 mg/L, which makes these points fit on class IV (Table 2) of the Resolution 357 of CONAMA (BRASIL, 2005). The same Resolution established that the pH must be between 6 and 9 for fresh waters of all classes and it is verified that, for all points, this value was within or near the recommended track. For the EC, the P3 points of Carahá river and the points P7, P8 and P9 of the Ponte Grande river presented a conductivity above 250 µS/cm, indicating a significant presence of ions on the water. Although Resolution 357 does not specify the maximum values for the conductivity for the water ranking, the high EC values observed in these points indicate that there are contributing factors for an increase in these passages of the water resource. According to Gasparotto (2011), for the river that is highly contaminated by sewers, the water EC can vary from 100 to 10.000 µS/cm. Therefore, having as maximum limit 100 µs/cm for a good quality water, it is possible to say that on the passages quoted above and constant on Table 4, the water presents itself with a bad quality.

Table 4: *pH, dissolved oxygen and electrical conductivity of Lages urban river waters between May and October of 2016*

River	Point	pH	OD (mg/L)	EC (µS/cm) (25°C)
Carahá	P1	6.34	8.26	129
	P2	6.87	4.51	119
	P3	7.51	2.88	310
Caveiras	P4	6.25	6.54	35
	P5	7.06	4.86	92
	P6	5.88	9.1	55
Ponte Grande	P7	5.99	10.4	300
	P8	7.11	1.34	265
	P9	7.13	3.54	258

3.2 Concentration of Al, Fe, and Mn on the water of urban rivers

Table 5 shows the results of the average concentration (mg/L) of Al, Fe, and Mn on the waters of nine points (P1 to P9) of the urban rivers in Lages.

Comparing the results from the Al, Fe and Mn concentrations presented in Table 5 with the reference values established by Resolution 357 (Table 2). This resolution establishes values of dissolved Al and Fe and values of the total Mn; due the fact the samples were collected in a dry period, the extraction method of the elements was total, therefore, it is hoped a minimal difference between the dissolved and the total, because the concentration of these elements is directly connected to the transportation of sediments from the rivers' margins. It is verified that for the Al element all points presented values that classify the water as a class IV, but the reference values refer themselves to a soluble Al. Thus, the water from the sampling points of this study can be destined for the navigation and landscaping harmony (BRASIL, 2005).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 5: *Concentration (mg/ L) and variation coefficient (vc %) of Al, Fe, and Mn on the waters of nine points (P1 to P9) of the urban rivers in Lages*

	Al		Fe		Mn	
	mg/L	vc%	mg/L	vc%	mg/L	vc%
P1	0.23	7.00	0.61	3.22	0.01	3.79
P2	1.37	3.60	1.03	2.61	0.01	0.96
P3	4.86	2.56	1.94	0.50	0.26	3.31
P4	0.96	2.01	1.29	0.84	0.04	4.00
P5	1.85	1.49	1.37	1.48	0.10	3.07
P6	1.37	3.60	0.76	2.61	0.03	0.96
P7	0.42	5.41	0.62	2.93	0.01	2.71
P8	1.50	4.06	2.29	1.16	0.95	1.97
P9	2.71	2.90	1.98	0.97	0.69	3.20

For Fe, all points presented concentrations that fit them on class III. The waters of class III rivers can be aimed to the supply for the human consumption after the conventional or advanced treatment, to the irrigation of arboreal, crops and forage cultures, to the amateur fishing, the recreation of secondary contacts and to a reliable place to drink water for the animals.

For the Mn, the P8 and P9 of the Ponte Grande river presented a concentration above 0.5 mg/L, which ranks it as a class IV, while P3 presented a concentration for the class III and the points P2, P4, P5, P6, and P7 stayed at classes I and II. It is noticed that the points P3, P8 and P9 coincide with higher EC values, confirming the hypothesis of a higher concentration of an ion in these points. Waters from class I rivers can be destined to the supply for human consumption after the simplified treatment, protection of the water communities, recreation of primary contact, irrigation of greeneries that are not eaten raw and of fruits that grow near the soil and that are eaten raw without removing the layer and protection from the water communities in indigenous lands (Brasil, 2005).

At Figure 2 it is shown the behavior profiles of Al, Fe, and Mn on water over the rivers (from the amount to the downstream). The metal levels in the waters of Carahá river presented a positive tendency line and a positive concentration gradient for Fe and Al, on the direction from the amount to the downstream.

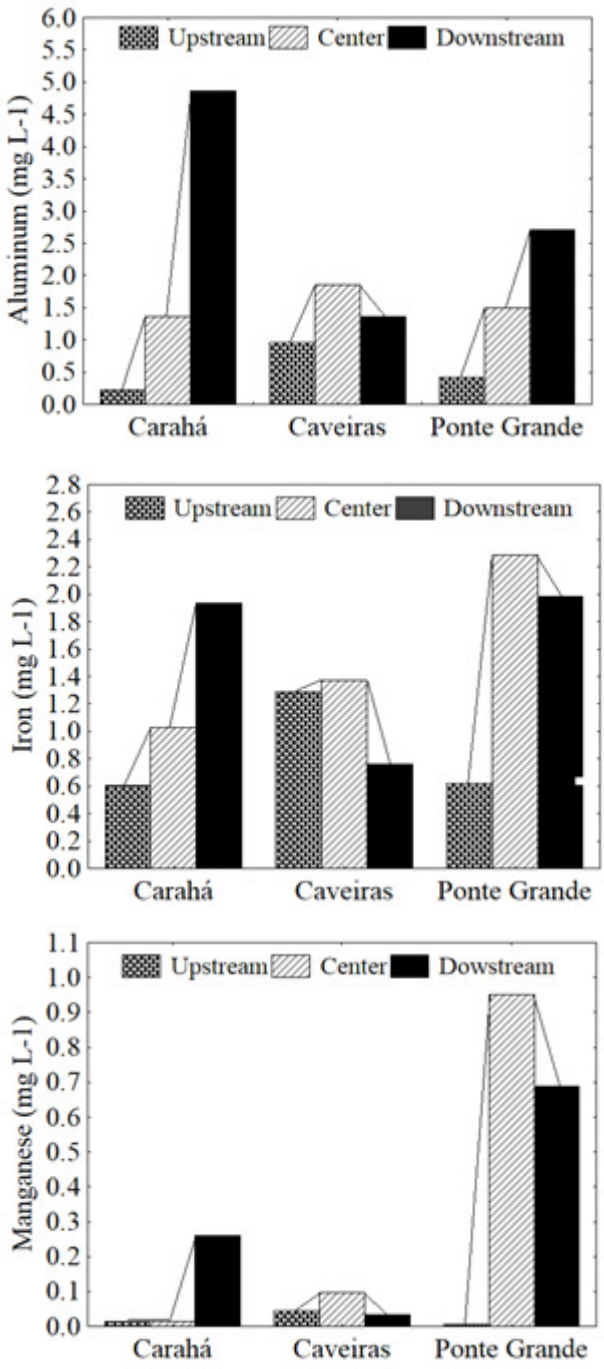


Figure 2. *Aluminum, iron and manganese profiles obtained for the waters of Carahá, Caveiras and Ponte Grande rivers from the city of Lages.*

The Mn presented low concentration on points P1 and P2, presenting a significantly higher level on point P3. On Caveiras river, the levels of Al, Fe, and Mn on water basically presented themselves as constants from the amount to the downstream, but they presented significantly higher levels than the nascent used as a control. On Ponte Grande river, the Al followed a positive tendency line and a growing gradient

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

concentration over the sampled points. For the Fe and Mn elements, it occurred a reduction on the concentration from the center to the downstream. Therefore, on the points where it was observed a positive tendency line and a positive concentration gradient on the direction amount to downstream, it is evinced the anthropic contribution over the city of Lages.

3.3. The concentration of Al, Fe, and Mn on the sediment of urban rivers

The sediments' texture is a factor that interferes on the concentration of metals. On the evaluated points, the texture varied between sand and blunts (P1 - sand, P2 - sand blunt, P3 - sand, P4 - sand blunt, P5 - silty blunt, P6 - sand blunt, P7 - sand blunt, P8 - silty blunt and P9 - sand blunt). This property interferes on the capacity to retain ions by the sediment, because higher the specific surface area of the sedimentary material, higher the adsorption and retention of substances, including the toxic contaminants. It is expected a higher retention of metals on the sediments with a silty characteristic because it has a higher surface area than the sandy sediments. The metals associated with the sediments can be released on the water column and bio-accumulate itself in plants and animals, entering, thus, on the food chain (Jesus *et al.*, 2004). However, environmental factors such as pH variations, redox potential, and presence of organic matter can influence on the stocking capacity on the sediments or on the bio-availability of the stocked elements, moving them on the environment, especially during flooding periods (Loureiro *et al.*, 2012).

In Table 6, it is presented the average concentration levels of Al, Fe, and Mn on the sediments of the points P1 to P9. On the central passage of the Caveiras river, there was a reduction of 40% on the concentration of Al and Fe, and there was a multiplication on the concentration of the downstream passage (exit from the urban area) in relation to the point to the amount. The Mn reduced 70% on the central passage and it had a new increase of 20% on the passage to the downstream in relation to the amount point. However, the Al, Fe and Mn levels on sediment in all the points were of 6 to 12 times superior to the sediments from the control stream (P1 and P7), what evince a significant degree of urban contamination.

Table 6: *Concentration (mg/L) of Al, Fe, and Mn on the sediments of nine points (P1 to P9) of the urban rivers in Lages.*

	Al		**Fe**		**Mn**	
	mg/L	vc%	mg/L	vc%	mg/L	vc%
P1	3,438	3.19	4,400	1.76	69	0.87
P2	18,142	2.40	10,035	0.33	83	1.03
P3	23,330	1.29	20,173	3.58	297	1.90
P4	19,915	1.58	27,865	3.50	525	1.70
P5	12,037	1.61	15,500	4.66	216	1.90
P6	39,693	1.70	44,179	2.56	621	1.77
P7	4,051	4.2	6,013	0.88	94	2.44
P8	23,784	3.77	30,362	4.60	355	1.03
P9	21,635	1.20	24,208	4.12	368	1.82

According with Thomas (1987) (Table 3), it is verified that the sediments from the points P1 and P2 (Carahá), P5 (intermediary point of Caveiras river) and P7 (intermediary point from the Rio Grande river) are classified as not-polluted by Fe, and, in the same way, these points added to the point P3 of Carahá river also did not present contamination by Mn. The sediments from points P3 of Carahá river and P9 of the Rio Grande river presented themselves as moderately polluted by Fe, while the sediments from the points P8 and P9 of Rio Grande river presented themselves as moderately polluted by the Mn element. The points P4 and P6 of the Caveiras river and P8 of the Rio Grande river presented themselves as highly polluted by Fe, and the points P4 and P6 of Caveiras river presented themselves as moderately polluted by Mn.

Figure 3 presents the behavior profiles from the Al, Fe and Mn parameters on the sediments of the three studied rivers.

On Carahá river, it was observed a positive tendency line and a growing concentration gradient, from the amount to the downstream, for the three parameters (Al, Fe, and Mn), evincing an increase of urban pollutants over the passage until the downstream. Caveiras river also presented a positive tendency line for the parameters that were monitored on the sediments, but it was not observed a growing gradient concentration, because there was a reduction of concentration on the central passage and an increase on the downstream.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

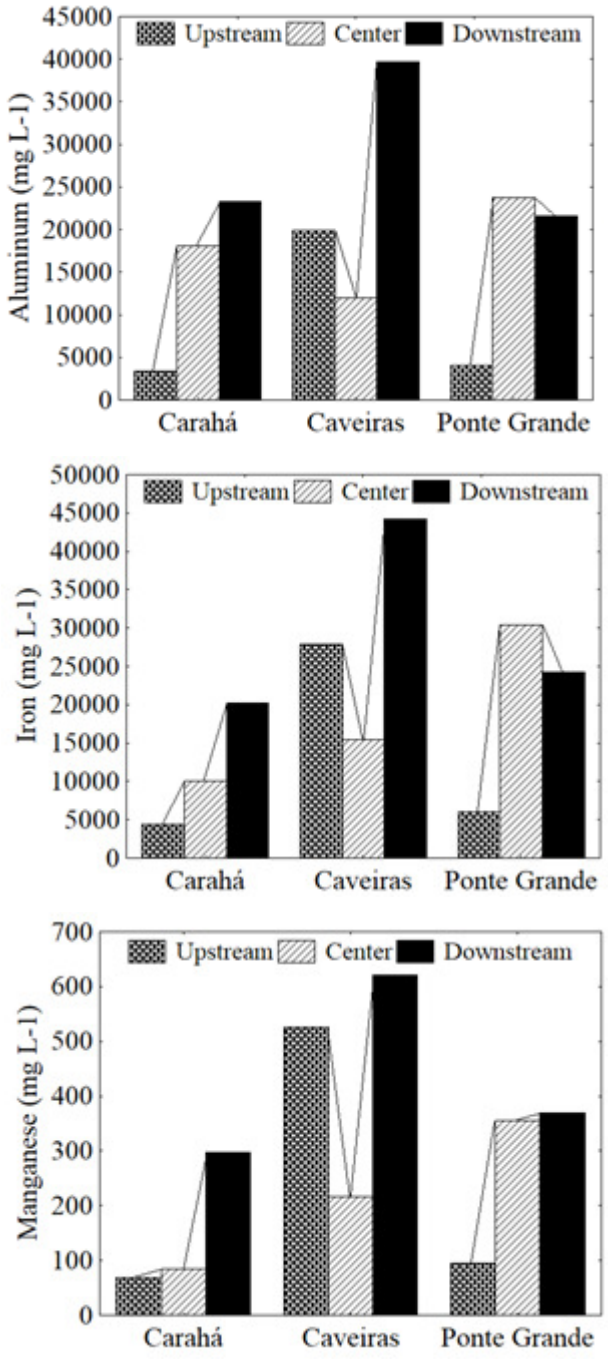


Figure 3. *Aluminum, iron and manganese profiles obtained for the sediments of Carahá, Caveiras, and Ponte Grande rivers from the city of Lages.*

The concentrations of Al, Fe, and Mn over the Caveiras river presented themselves significantly above the control streams. The Al, Fe and Mn levels for the sediment of the Ponte Grande river presented positive tendency lines, but it did not occur a growing concentration gradient from the center to the downstream. Several factors might have influenced this behavior besides the volume of pollution sources over the urban passage, the texture and pH, that might influence the results found. It was observed that the central point of the Ponte Grande river presented a silty blunt texture, while the other points have a sandy characteristic, which might have contributed for a higher adsorption of metals in the sediment. Besides, the pH in this point was around 7, what might have contributed to keeping the metals precipitated or strongly connected to their solid phase, as the central point of Caveiras river.

3.4. Pearson correlation between Al, Fe, and Mn on water and on sediment

On Table 7 there's the matrix of Pearson correlation, which shows the results of the t-test on the significant levels of 5% and 1% for the concentrations of Al, Fe, and Mn on sediment and on water.

It is noticed that there's a positive correlation between the variables Al and Fe, Fe and Mn and Al and Mn on the sediment, indicating a strong association between these variables. It is also noticed a positive correlation between the variables Fe and Mn on water, indicating that the Fe variable is strongly related to the Mn variable. It was not expected positive correlations from the pH with Al and Fe on water, this behavior can be influenced by several factors, such as solid, dissolved gases, hardness, alkalinity, temperature, biotic factors, among others (Fritzons *et al.*, 2003). According to Coringa *et al.* (2016), the precipitation of oxides hydrated with iron is associated with the transportation and availability of metals that influence the exchanges on the water-sediment interface. The high correlation between Fe and Mn on the sediment can be explained through the adsorption of manganese on the way of precipitated of iron oxides and hydroxides.

CONCLUSIONS

The concentrations of Al, Fe, and Mn deferred between the water and sediment samples and over the disturbance gradient analyzed. The water from the sampled points presented an elevated conductivity, indicating the significant presence of metals on its ionic form. In all of the sampled points, it was obtained Al values equivalent to the class IV of the Resolution 357 from the Environment National Board. On the sediment, it was observed concentrations of Al, Fe, and Mn much superior to the ones observed

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

on both nascent from the Carahá and Ponte Grande rivers (P1 and P2 points) in a magnitude from 6 to 12 times. The levels of these elements on the sediment, according to the references for the pollution levels, fit the studied rivers in moderately or highly polluted in their central passages and to the downstream (river mouth or on the exit from the urban area). It occurred an increase in the concentration of some major elements, such as Al, Fe and Mn, when compared with the control points that might result on the significant increase of other elements, which are more toxic than the ones evaluated as Cd, Cr, Cu, Zn and Pb, since they can be retained by oxides of Fe, Al, and Mn, turning the monitoring of these urban rivers into an important preservation tool from this water resource, which is so important for the city of Lages-SC-Brazil.

ACKNOWLEDGMENT

The authors are indebted to the project "Evaluation of heavy metals in tributaries of the Canoas River in na urban recharge area of Guarani aquifer" (Fapesc2015TR1069), in the framework of the Guarani/Serra Geral Network Project and gratefully acknowledge the financial support of ANA/CNPq/CAIXA/FAPESC

REFERENCES

1. American Society for Testing and Materials (ASTM). D 1193-06 Standard Specification for Reagent Water, 2018
2. American Public Health Association. Standard Methods for The Examination of Water and Wastewater, Washington: APHA, 21 ed., 2005.
3. Bordon, I.C.A.C., Sarkis, J.E.S., Gobbato, G. M., Hortellania, M.A., Peixoto, C.M. *J. Braz. Chem. Soc.*, **2011**, *22*(10), 1858.
4. BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005. do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. http://www2.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf. acessed 10 february 2017.
5. BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 420, de 28 de dezembro de 2009. http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=620, acessed 10 february 2017.
6. COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO – CETESB (Brasil). Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo. 2017. https://cetesb.sp.gov.br/aguas-interiores/publicacoes-e-relatorios/2009. acessed 10 march 2017
7. Coringa, J.E.S., Pezza, L, Coringa, E.A.O., Weber, O.L.S. *Acta Amaz.,* **2016**, *46*(2), 161.
8. Fritzsons, E.; Hindi, E.C.; Mantovani, L. E., Rizzi, N.E. *Eng. Sanit Ambient.* **2003**, *8*(4), 239.
9. Gasparotto, F. A. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Brasil, 2011.
10. Goher, M, E, Hassan, A.M., Abdel-Moniem, I.A., Fahmy, A.H., Abdo, M.H., El-Sayed, S.M. *Egypt J Aquat Res.*, **2015**, *41*, 155.
11. ISO 14666. Soil quality - Extraction of trace elements soluble in aqua regia. **1995.** https://www.iso.org/standard/19418.html. acessed 10 february 2017.
12. Jesus, H.C., Costa, E.A., Mendonça, A.S.F., Zandonade, E. *Quim. Nova*, **2004**, *27*, 378.
13. Joode, B.W., Barbeau, B., Bouchard, M.F., Mora, A.M., Skytt, Å., Córdoba, L., Quesada, R., Lundh, T., Lindh, C.H., Mergler, D. *Environ Pollut*, **2016**, 215, 247.
14. Loreiro, D.; Fernandez, M.; Herms, F.; Araujo, C.; Lacerda, L. D. *Oecol. Austs.,* **2012**, *16*(3), 353.
15. Mazzolli, M., Ehrhardt-Brocardo, N.C.M. *Geosul*, **2013**, *28*(55), 163.
16. Paula Filho, F.J., Marins, R.V., Lacerda, L.D., Aguiar, J.D., Peres, T.F. *Marine Poll Bull*, **2014**, *91*(2), 424.
17. Reimann, C., Filzmoser, P., Garrett, R.G., *Sci. Total Environ.*, **2005**, *346*, 1.
18. Riguetti, P.F., Cardoso, C.A.L., Cavalheiro, A.A., Lenzi, E., Fiorucci, A.R., Silva, M.S. M. *Rev. Ambient. Água,* **2015**, *10*(1), 153.
19. Semensatto-Jr., D.L., Araújo, G.C.L., Funo, R.H.F., Santa-Cruz, J., Dias-Brito, D. *Pesquisas em Geociências*, **2007**, *34*(2), 25.
20. Scheibe, L. F.; Hirata, R. Anais do XV Congresso Brasileiro de Águas Subterrâneas. Curitiba: Associação Brasileira de Águas Subterrâneas, Sáo Paulo, Brasil, 2008.
21. Thomas, R. L. A. Ecological Effects of In Situ Sediment Contaminants; Thomas, R.; Evans, R.; Hamilton, A.; Munawar, M.; Reynoldson, T.; Sadar, H., eds; Dr. W. Junk Publishers: Dordrecht, 1987, *149*,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

247. *Catena*, **2014**, *119*, 52.
22. Yuan,X.; Zhang, L.; Li, J.; Wang, C.; Ji, J.

Table 2. *Concentration limits for the Al, Fe and Mn parameters on the different classes established by the Resolution 357 of CONAMA of 2005*

	Class I	**Class II**	**Class II**	**Class IV**
Al dissolved	0.1 mg/L	0.1 mg/L	0.2 mg/L	>0.2 mg/L
Fe dissolved	0.3 mg/L	0.3 mg/L	5 mg/L	>5 mg/L
Mn total	0.1 mg/L	0.1 mg/L	0.5 mg/L	>0.5/mg/L
pH	6 – 9	6 - 9	6 – 9	6 – 9
Dissolved oxygen	>6	> 5	> 4	> 2

Table 7: *Pearson correlation matrix with significance levels for the t-test for the concentrations of Al, Fe, and Mn on sediment and on water*.

	$Al_{sediment}$	$Mn_{sediment}$	$Mn_{sediment}$	Al_{water}	Fe_{water}	Mn_{water}	pH
$Mn_{sediment}$	0.93**	1.00					
$Mn_{sediment}$	0.84**	0.96**	1.00				
Al_{water}	0.39ns	0.22ns	0.20ns	1.00			
Fe_{water}	0.34ns	0.35ns	0.28ns	0.67ns	1.00		
Mn_{water}	0.27ns	0.35ns	0.22ns	0.33ns	0.86**	1.00	
pH	0.05ns	-0.08ns	-0.17ns	0.77	0.82**	0.57ns	1.00
EC	-0.20ns	-0.26ns	-0.34ns	0.45ns	0.46ns	0.53ns	0.47ns

* Significant test at the 5% level of significance; ** Significant test at the 1% level; ns Test not significant to the 5% levels of significance.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

IDENTIFICAÇÃO DE FOCOS DE TULAREMIA USANDO IMUNOENSAIO ENZIMÁTICO NAS PLUMADAS DE AVES PREDADORAS

DETECTION OF FOCI OF TULAREMIA USING ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE PREDATORY BIRD PELLETS

ВЫЯВЛЕНИЕ ОЧАГОВ ТУЛЯРЕМИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА ПОГАДОК ХИЩНЫХ ПТИЦ

ANDREYCHEV, Alexey[1]*; BOYAROVA, Ekaterina [2]; LAPSHIN, Alexander[1]; KUZNETSOV, Vyacheslav[1]

[1]National Research Mordovian State University, Department of Zoology, Saransk, Bolshevistskaya street, 68, 430005 Russia

[2]"Center for Hygiene and Epidemiology in the Republic of Mordovia", Saransk, Dalʾnaya street, 1a, 430030 Russia

** Correspondence author*
e-mail: andreychev1@rambler.ru

Received 19 November 2018; received in revised form 30 November 2018; accepted 14 December 2018

RESUMO

Os resultados da identificação de focos de tularemia usando as plumadas de aves predatórias na parte central da Rússia usando o exemplo da República da Moldávia são apresentados. A eficácia da detecção de tularemia nas plumadas em comparação com outros biomateriais. O conteúdo médio do antígeno da microbiota tularemia das plumadas de aves de rapina foi de 9,4%. Os resultados do imunoensaio enzimático das plumadas de diferentes espécies de aves de rapina para a presença do agente causador de tularemia mostraram que em algumas espécies há mais casos de detecção. O maior número de registros do agente causador de tularemia nas plumadas foi observado em corujas de águia (29,2%). Em menor grau, o patógeno foi detectado na coruja de cauda longa (14,7%). O antígeno da tularemia foi encontrado mais frequentemente nas plumadas de aves de rapina do que no biomaterial de roedores. A maior proporção de amostras positivas foi registrada em áreas costeiras. Na dinâmica de identificação do agente causador de tularemia deve-se notar em 2015, 2017 e 2018, que são caracterizadas por altas taxas.

Palavras-chave: *Tularemia, Cirurgia, Epizootiologia, Imunoensaio*

ABSTRACT

The results of identifying tularemia foci using the predatory bird pellets in the central part of Russia using the example of the Republic of Mordovia are presented. The efficacy of tularemia detection in pellets compared with other biomaterials has been shown. The average content of the tularemia microbe antigen from the predatory bird pellets was 9,4%. The greatest number of registrations of the causative agent of tularemia in the pellets was observed in Eagle Owl (29,2%). To a lesser extent, the pathogen was detected in the Ural Owl (14,7%). The tularemia pathogen was detected more often in the bird predator pellets than in the biomaterial from rodents. The largest share of positive samples was recorded in the riverine districts. The dynamics of identifying the causative agent of tularemia should be noted in 2015, 2017 and 2018, which are characterized by high values of the indicator.

Keywords: *Tularemia, Pellet, Epizootology, Enzyme immunoassay*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

АННОТАЦИЯ

Представлены результаты выявления очагов туляремии с использованием погадок хищных птиц в центральной части России на примере Республики Мордовия. Показана эффективность выявления туляремии в погадках по сравнению с другими биоматериалами. Среднее содержание антигена туляремийного микроба из погадок хищных птиц по Мордовии составило 9,4 %. Результаты иммуноферментного анализа погадок разных видов хищных птиц на наличие возбудителя туляремии показали, что у некоторых видов больше случаев выявления. Наибольшее число регистрации возбудителя туляремии в погадках отмечено у филина (29,2%). В меньшей степени возбудитель выявлялся у длиннохвостой неясыти (14,7%). Туларемийный антиген обнаруживался чаще в погадках хищных птиц, чем в биоматериале от грызунов. Наибольшая доля положительных образцов была зарегистрирована в прибрежных районах. В динамике выявления возбудителя туляремии следует отметить в 2015, 2017 и 2018 года, которые характеризуются высокими показателями показателя.

Ключевые слова: *Туляремия, Погадка, Эпизоотология, Иммуноферментный анализ*

INTRODUCTION

Tularemia is a zoonosis affecting more than 120 species of vertebrate animals, mainly representatives of the order of rodents. It is a natural focal disease widespread in Europe (Cerny, 2001; Tärnvik *et al*., 2004; Aldea-Mansilla et al., 2010). In various regions of Russia, the value of tularemia is also great (Trankvilevskii *et al*., 2015; Kudryavtseva *et al.,* 2016). Tularemia is an infection relevant to the Russian Federation as before. The changes in the epizootic and epidemic process of tularemia necessitate better surveillance as a whole and epizootiological monitoring in particular (Nafeev *et al.,* 2016). Pathogenicity of tularemia (*Francisella tularensis*) belongs to group II of microorganisms, the isolation and identification of which can be carried out in specially equipped laboratories by trained specialists vaccinated against tularemia. Tularemia is transmitted to a person by contact (when rodents are opened, when in contact with contaminated water), alimentary (when consumed, food and water contaminated by rodents) and aspiration (by dust inhalation) (Magnino *et al.,* 2011). The pathogen can also be transmitted by blood-sucking and other arthropods (ticks, fleas, mosquitoes, gadflies, and flies). For to identify the causative agent of tularemia in the environment, for monitoring purposes, rodents and their nests, water from natural sources, and birds of prey are analyzed. In the latter case, experts, as a rule, do not attach any importance to what type the casting belongs. The potential role of birds of prey is can as asymptomatic carriers of pathogenic bacteria which could be disseminated in the environment not only through the birds of prey feces but also through their pellets (Dipineto *et al.,* 2015).

Serological analysis (reaction of antibody neutralization) of pellets of birds for the presence of tularemia microbe antigen is an efficient method of detection and investigation of epizootics in all types of natural foci of the infection and also for the exploration of new focal territories. The method permits with small expenditure of labour and within a short time, to collect material characterizing the epizootic process on a large territory (Dobrokhotov and Meshcheryakova, 1980). Proved that the greater effectiveness of examination of bird's pellets for the reconnaisance investigation of tularemia in comparison with the bacteriological methods applied usually.

We have proposed a hypothesis according to which pellets of certain species of birds of prey give different results on the identification of the causative agent of tularemia. The reason for this is the differences in the food spectrum of different species of predators. In the literature available to us, we have not found studies relating specifically to this problem. In one of the regions of the European part of Russia, namely in Mordovia, an earlier analysis was

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

not conducted to identify the causative agent of tularemia in the biomaterial from specific species of birds of prey.

The aim of our research was to identify the causative agent of tularemia in the pellets of owls and day birds of prey in the Republic of Mordovia. The results of the analysis of the collected material provide new information describing the possibility of using tularemia for monitoring certain species the bird predator.

MATERIALS AND METHODS

The material for this article was the Eagle Owl *Bubo bubo* (Linnaeus, 1758), the Ural Owl *Strix uralensis* (Pallas, 1771), the Long-eared Owl *Asio otus* (Linnaeus, 1758), the Imperial Eagle *Aquila heliaca* (Savigny, 1809), the White-tailed Eagle *Haliaeetus albicilla* (Linnaeus, 1758), collected in the snowless period of 2015-2018 at the breeding sites in Bolʾshebereznikovskii (54°04' N, 46°42' E), Dubenskii (54°20' N, 46°32' E), Kochkurovskii (53°53' N, 45°22' E), Chamzinskii (54°25' N, 45°34' E), Atyashevskii (54°39' N, 46°19' E), Ardatovskii (54°47' N, 46°08' E) districts of the Republic of Mordovia. In the Bolʾshebereznikii district, pellets were collected in biotopes in the vicinity of the villages of Simkino, Tazino, Veise, Nerley, Shugurovo. In the Dubenskii district, the collection of pellets was carried out in the biotopes of the surroundings of the villages of Nikolaevka, Kaibichevo, Cheberchino, Morga, Krasino, Krasnoe Polʾtso. In Kochkurovskii district, a pellet collection was carried out in biotopes of the surroundings of the villages of Novyi Turdaki, Bulgakovo. In the Chamzinskii district, the collection of pellets was carried out in biotopes of the vicinity of the villages of Makolovo and Machkazerovo. In Atyashevskii district, the collection of pellets was carried out in biotopes of the surroundings of the villages of Dyurki. In Ardatovskii district, the collection of pellets was carried out in biotopes of the vicinities of the villages of Redkodubʾe, Lunʾga. The material on nutrition was collected both purposefully and in the course of field work on the study of the spectrum of nutrition. Samples were collected and transported in plastic bags. Pieces were subjected to enzyme immunoassay (EIA) to identify the causative agent of tularemia. Samples were analyzed at the accredited testing laboratory center of the Center for Hygiene and Epidemiology of the Republic of Mordovia. The method is based on the scheme of indirect enzyme immunoassay. The use of an enzyme immunoassay for the diagnosis of tularemia and for the detection of the pathogen in environmental objects is regulated by guidelines (Balahonov *et al.,* 2011). In the formulation of enzyme immunoassay, the tularemia antigen contained in the test material specifically interacts with tularemia immunoglobulins sorbed on the plate. The resulting antigen-antibody complex was detected using a conjugate that catalyzed the splitting of ortho-phenylenediamine. Preparation for the study of the pellets of birds of prey was carried out as follows. Each bead was individually poured with 1% formalin so that its excess was 5-10 ml. Then the knead kneaded. After settling for 1-6 hours, the supernatant was collected, heated at a temperature of 100 ° C for 20 minutes and, if necessary, filtered through a cotton swab.

EIA was performed in the wells of a sensitized plate. For this purpose, 0.1 ml of tularemia immunoglobulins of the working dilution were added to the wells of an EIA analysis using an automatic dosing unit. The plate with immunoglobulins was closed with a lid and incubated at 37 ºC for 3 hours or at 5ºC for 16-18 hours. At the end of the incubation, the contents of the wells were removed by shaking into a container for used solutions. 300 microlitre of phosphate-saline buffer and tween-20 were added to each well. Then mixed with five to six circular motions of the tablet on the surface of the table. After that, the contents of the wells were removed by decanting. Carefully remove the remnants of moisture from the wells, several times abruptly shaking out the plate on a gauze napkin or filter paper.

For direct analysis, 0,1 ml of a

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

suspension of a tularemia microbe from the kit (positive control) was added to the two wells with a dispenser. 0,1 ml of phosphate-saline buffer with tween-20, bovine serum albumin was added to two wells and used as a negative control. In the remaining wells, 0,1 ml of the tested suspensions were introduced at a concentration of 1,0 × 109 m.s. / ml or the material under investigation in two replications.

The tablet with the suspension of cultures and the test material was closed with a lid and incubated for 60 min at 37 ° C.

At the end of the incubation, the contents of the wells were removed by simply shaking into a container for used solutions. 300 microlitre of phosphate-saline buffer with tween-20 was added to each well. Stirred with five to six circular motions of the plate on the surface of the table, after which the contents of the wells were removed by decanting. The operation was repeated twice. After that, the remnants of moisture were carefully removed from the wells, several times sharply shook out the tablet on a gauze napkin or filter paper.

0,1 ml of the dilution of the working dilution was added to all wells. The tablet with the introduced conjugate was closed with a lid and incubated for 30 min at 37 ºC.

Removed solutions from the wells of the tablet by simply shake out in the tank for used solutions. Washed in phosphate-buffered saline with tween-20 six times.

In all the wells in the same sequence as the conjugate, was made of 0.1 ml of the substrate-indicator solution. We took into account the color change of the solutions in the wells for 1-3 minutes, using a stopwatch. In the negative control wells, the liquid should remain colorless or slightly yellow. In wells with dilutions of suspensions and the test material, the liquid takes on an orange to yellow color, depending on the concentration of microbial cells in the sample.

As soon as the liquid in the negative control wells started to turn slightly yellow, the reaction was stopped by adding 50,0 microlitre of stop solution to each well of the plate at the same rate and in the same sequence as the substrate-indicator solution, and the contents of the wells were thoroughly mixed.

The results were recorded on a photometer for enzyme immunoassay at a wavelength of 492 nm. In this case, the duration of the procedure for measuring the optical density should not exceed 15 minutes. The results were considered positive if the optical density of the samples was 2 or more times higher than the optical density of the negative control.

A total of 341 pellets from nesting parts of the Eagle Owl (n = 142), the Ural Owl (n = 79), the Long-eared Owl (n = 59), the Imperial Eagle (n = 37), the White-tailed Eagle (n = 24) were subjected to analysis. The big share of pellets of an Eagle Owl is assembled caused by close attention to studying of the different parties of biology of a look in the region (Andreychev et al., 2017; Lapshin et al., 2018). Statistical calculations were performed using computer programs AtteStat 8 (2002), Microsoft Office Excel (2003).

RESULTS AND DISCUSSION:

The average content of the tularemia microbe antigen from the pellets of birds of prey in Mordovia was 9.4%. The results of the enzyme immunoassay of the pellets of different species of birds of prey for the presence of the causative agent of tularemia showed that in some species there are more cases of detection. The greatest number of registrations of the causative agent of tularemia in the pellets was observed of the Eagle Owl (29,2%). To a lesser extent, the pathogen was detected of the Ural Owl (14,7%). The tularemia pathogen has not been identified in the graves of the Long-eared Owl, the Imperial Eagle, the White-tailed Eagle.

The Eagle Owl and Ural Owl can be recognized as monitoring bird species for the detection of tularemia in natural focis. The reason for this is a wide range of prey and especially small mammals. According to the results of the work in the pellets and eaters of the Eagle Owl, mammals prevailed (88,5%) over birds (8,1%) (Andreychev *et al.,* 2014;

2016). Mammals in the spectrum of Eagle Owl in Mordovia are represented by the following: the common vole *Microtus arvalis* (Pallas, 1778), the short tailed vole *M. agrestis* (Linnaeus, 1761), the root vole *M. oeconomus* (Pallas, 1776), the bank vole *Clethrionomys glareolus* (Schreber, 1780), the water vole *Arvicola terrestris* (Linnaeus, 1758), the muskrat *Ondatra zibethicus* (Linnaeus, 1766), the common hamster *Cricetus cricetus* (Linnaeus, 1758), the Norway rat *Rattus norvegicus* (Berkenthout, 1769), the Ural field mouse *Sylvaemus uralensis* (Pallas, 1811), the yellow-necked mouse (*S. flavicollis* (Melchior, 1834), the striped field mouse *Apodemus agrarius* (Pallas, 1771), the harvest mouse *Micromys minutus* (Pallas, 1771), the northern birch mouse (*Sicista betulina* (Pallas, 1778), the great jerboa *Allactaga major* (Kerr, 1792), the spotted suslik *Spermophilus suslicus* (Gueldenstaedt, 1770), the red squirrel *Sciurus vulgaris* (Linnaeus, 1758), the hedgehog *Erinaceus* sp. (Linnaeus, 1758), the mole *Talpa europaea* (Linnaeus, 1758), the Eurasian common shrew *Sorex araneus* (Linnaeus, 1758), the ostsibirische shrew *S. isodon* (Turov, 1924), the water shrew *Neomys fodiens* (Pennant, 1771), the weasel *Mustela nivalis* (Linnaeus, 1766). According to the results of work in the pellets and eating the Ural Owl, mammals (86,4%) prevailed over birds (13,6%) (Andreychev and Lapshin, 2017). Mammals in the food spectrum of the Ural Owl in Mordovia are represented exclusively by members of the Rodentia order. The following species of rodents were identified: the bank vole (*Cl. glareolus*), the common vole (*M. arvalis* s.l.), the root vole (*M. oeconomus*), the Ural field mouse (*S. uralensis*), yellow-necked mouse (*S. flavicollis*), and the striped field mouse (*A. agrarius*). Most of the diet of the Ural Owl falls on gray voles (47,7%), namely the common vole (41,8%) and the vole-housekeeper (5,9%). There is a similarity of nutrition with the Eagle Owl (Andreichev *et al.,* 2014) and the Imperial Eagle. The bank vole stands in second place in the diet of the Ural Owl (31,4%). The share of mice accounted for only 7,3%. Of mice, the predator most often harvests the Ural field mouse. The insignificant predominance of open spaces over forest representatives among the victims is explained by the fact that the Ural Owl meadow for hunting prefers, first of all, glades, forest edges and edges of cuttings or burns adjacent to the forest. Thus, it can be stated that the range of feeding of the Ural Owl can vary by year depending on the number of gray and red vole species. However, it is possible to precisely name the common and the bank vole as the main prey of *S. uralensis* in Mordovia. Our data are consistent with the results of other researchers (Obuch *et al.,* 2013).

Birds (54%) prevailed over mammals (46%) in food spectrum the Imperial Eagle. Mammals in the feeding spectrum of the Imperial Eagle in Mordovia are represented by the following: the common vole (*M. arvalis* s.l.), the water vole (*A. terrestris*), the muskrat (*O. zibethicus*), the common hamster (*Cr. cricetus*), the Norway rat (*R. norvegicus*), the striped field mouse (*A. agrarius*) the hedgehog (*Erinaceus* sp.), the cat *Felis catus* (Linnaeus, 1758). In the feeding of the White-tailed Eagle, birds (26%) prevailed over mammals (less than 15%). Mammals in the food spectrum of the white-tailed eagle in Mordovia are represented by the following water vole (*A. terrestris*), the muskrat (*O. zibethicus*), the Eurasian beaver (*Castor fiber*), the common red fox (*Vulpes vulpes*). The following species have been identified in the food of an eared owl: the common vole (*M. arvalis* s.l.), the striped field mouse (*A. agrarius*), the Ural field mouse (*S. uralensis*).

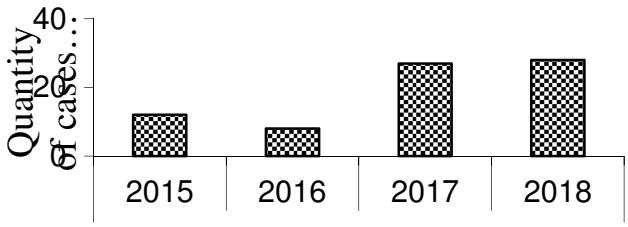


Figure 1. Dynamics of detection of tularemia microbe antigen among small mammals in the region

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table: Efficiency of detection of the causative agent of tularemia in different biomaterials from animals

District	Detection of tularemia pathogen	
	Pellets of prey birds	Rodents
Bol'sheberezhnikovskii	+	+
Dubenskii	+	–
Kochkurovskii	–	–
Chamzinskii	+	+
Atyashevskii	–	–
Ardatovskii	+	–

The dynamics of identifying the causative agent of tularemia in Mordovia (Fig. 1) should be noted in 2015, 2017 and 2018, which are characterized by peak values. It is advisable to indicate the distribution of cases of registration of positive samples in relation to the identification of the causative agent of tularemia in the pellets of prey birds of the districts. A large proportion (66,7%) was recorded for the Dubenskii district, for the Ardatovskii district (43,8%), for the Bol'sheberezhnikovskii district (25,4%). Fewer cases of detection in Chamzinskii (15,1%), Kochkurovskii (13,8%), Atyashevskii (10,3%) districts. Mostly, the tularemia microbe antigen was most often detected in areas along the middle rivers (Sura, Alatyr) than in areas that do not have such water arteries. In pellets of prey birds, the causative agent of tularemia was detected in the districts more often than in the biomaterial from rodents (Table). This circumstance can be explained from the position that the remains of the victim can contain several victims at once. This is evidenced by the results of studies of osteological material (Andreychev *et al.,* 2014; 2016; Andreychev and Lapshin, 2017). Therefore, the probability of detecting a tularemia microbe antigen is higher here.

Analyzing the results obtained in Mordovia (Andreychev et al., 2016) from the spectrum of mouse-like rodents infected with tularemia (Fig. 2), the primary role of the carrier of this disease of the bank vole (42%) and the Ural field mouse (25%) should be noted. The house mouse (15%) and the common vole (13%) have a slightly smaller share of tularemia infection among rodents of the Mordovia.

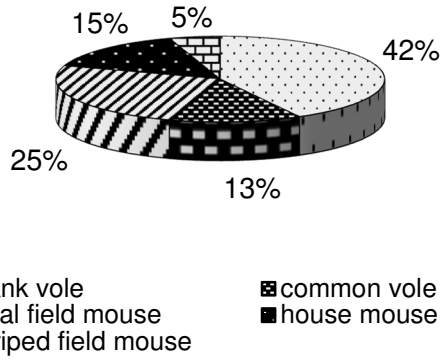


Figure 2. The structure of the population of rodents involved in the circulation of tularemia

For the Republic of Mordovia, the average content of the tularemia microbe antigen (9,4%) from the predatory bird pellets is comparable with the results of research on the Brest region (10,5%) and is significantly higher than in the Gomel region (0,8%) in Belarus (Tsvirko *et al.,* 2016).

Our results on the significant diversity of the spectrum of the Eagle Owl and the Ural Owl are consistent with the literature data. It is this circumstance that determines their significant role in the use of tularemia as monitoring. Many researchers revealed that the major part of prey in the diet of the eagle-owl consists of mammals (Gromov and Egorov, 1953; Shehab, 2004; Hofmann et al., 2005; Bayle and Prior, 2006). However, the rare bird's favorite mammalian food is rodents, as an analysis of the diet has shown (Andreychev et al., 2014, 2016). The range of Ural Owl food includes more than twenty species of mammals, thirty species of birds and a number of animals of other classes (Sidorovich *et. al.,* 2003; Kloubec *et al.,* 2005; Dravecky and Obuch, 2009). The owl's diet, like in the Eagle-owl's one, can vary quite significantly in different regions. The basis of

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

its diet (20.0–85.8 %) is made up of various mammals (Sharikov *et al.,* 2009). Among the owls of the *Strix* genus the Ural Owl is able to hunt the largest animals (capercaillie, black grouse, white partridge, hazel grouse, squirrel). But its main food is the muroid rodents (Mikkola, 1983). At one pellet, we sometimes record 4 voles at once.

The results of the study of tularemia-infected mouse-like rodents in the Republic of Mordovia are consistent with data obtained throughout the Volga Federal District (Trankvilevskii *et al.,* 2015) Currently, the vole is a major carrier of tularemia in Mordovia (42% of cases infected among all rodents). It should be noted a similar picture in the primary role of the carrier of this disease of the bank vole in the Volga Federal District – 56,2%. The share of the Ural field mouse in the Volga Federal District accounts for 21,9%. The striped field mouse in the Volga Federal District accounts for 15,6%. For comparison, the main carrier of tularemia in the Smolensk region is the common vole – 46 (39%) cultures; the secondary ones are the striped field mouse – 16 (13,55%) and the house mouse *Mus musculus* (Linnaeus, 1758) – 18 cultures (15,25%) (Popov *et al.,* 2017). In the Belarusian Polesie from 2001 to 2015 the antigen of the pathogen was diluted 1: 20–1: 160 in the striped field mouse, the forest mouse, the yellow-necked mouse, the harvest mouse, house mouse, the bank vole, the common vole, root vole, water vole, the Norway rat. The leading place in the number of positive answers is occupied by: the house mouse – 147 (42,6%), the striped field mouse – 69 (20,0%), the common vole – 45 (13,0%), the bank vole – 32 (9,2%) (Tsvirko *et. al.,* 2016).

On the districts the number of positive reactions in pellets to a tularemia differed. The largest share of positive samples was registered in the riverside districts: Dubenskii (66,7% of all samples of the district) and Ardatovskii (43,8% of all samples of the district), Bol'shebereznikovskii (25,1% of all samples of the district). A similar situation of uneven detection of tularemia in the districts was also observed for Belarusian Polesye. The pathogen antigen was found regularly in 1978–2000 in the castles of birds of prey and in the litter of predatory mammals. So, in 1982, in the study of 326 specimens of the bird's food and 475 specimens of predator feces collected in 4 districts, the antigen was not detected. In 1983, the number of positive probes was 2,4%; litter 1,8%. Moreover, in two of the five surveyed areas, the antigen was not detected at all, in two the number of positively responding bugs exceeded 5,0%. In 1984, the antigen was found only in the bird pellets in 5 of the 11 areas surveyed. The number of positive samples was 5,1%. In some cases, a high percentage of positively reacted samples were noted in areas where tularemia was not recorded in the past. In areas characterized by the presence of active foci in the past, the antigen was rarely found in the pellets and excrement (Tsvirko *et. al.,* 2015).

The number of positive reactions of the Belarusian Polesye differed by year, as well as of the Republic of Mordovia. For the Belarusian Polesie in 2015, there were more cases of registration of positive reactions in the pellets, compared with 2016 and 2017. For Mordovia (Fig. 1), the number of registrations of the tularemia pathogen was also observed in 2015 compared to 2016. However, in 2017 and 2018, the number of cases of registration increased dramatically.

4. CONCLUSIONS

The average content of the tularemia microbe antigen from the predatory bird pellets was 9,4%. The greatest number of registrations of the causative agent of tularemia in the pellets was observed in Eagle Owl (29,2%). To a lesser extent, the pathogen was detected in the Ural Owl (14,7%). The tularemia pathogen was detected more often in the bird predator pellets than in the biomaterial from rodents. The largest share of positive samples was recorded in the riverine districts. The dynamics of identifying the causative agent of tularemia should be noted in 2015, 2017 and 2018, which are characterized by high values of the indicator.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

5. REFERENCES:

1. Aldea-Mansilla, C.; Nebreda, T.; Garcia de Cruz, S.; Dodero, E.; Escudero, R.; Anda, P.; Campos, A., 2010: Tularemia: A decade in the province of Soria (Spain). *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin* **28:** 21-26.
2. Andreychev, A.V.; Lapshin, A.S., 2017: Quantitative and Qualitative Composition of Diet of the Ural Owl, *Strix uralensi* (Strigidae, Strigiformes), in the Central Part of European Russia (the Example of the Republic of Mordovia). *Vestnik zoologii* **51(5):** 421-428.
3. Andreychev, A.V., Lapshin, A.S., Kuznetsov, V.A., 2014: Food spectrum of the Eagle owl (*Bubo bubo*) in the Republic of Mordovia. *Zoologicheskii Zhurnal* **93(2):** 248-258.
4. Andreychev, A.V.; Lapshin, A.S.; Kuznetsov, V.A., 2016: Breeding success of the Eurasian Eagle Owl (*Bubo bubo*) and rodent population dynamics. *Biology Bulletin* **43(8):** 851-861.
5. Andreychev, A.V.; Lapshin, A.S.; Kuznetsov, V.A., 2017: Techniques for recording the Eagle owl (*Bubo bubo*) based on vocal activity. *Zoologicheskii Zhurnal* **96(5):** 601–605.
6. Balahonov, S.V.; Innokentyeva, T.I.; Chesnokova, M.V.; Mazepa, A.V.; Tatarnikov, S.A., 2011: The order of organization and conduct of laboratory diagnosis of tularemia for laboratories of territorial, regional and federal levels. Methodical instructions. Moscow, 45.
7. Bayle, P.; Prior, R., 2006: Prey species of Eagle Owl *Bubo bubo* in Lebanon. *Sandgrouse* **2:** 167-168.
8. Cerny, Z., 2001: Changes of the epidemiology and the clinical picture of tularemia in Southern Moravia (the Czech Republic) during the period 1936-1999. *Eur. J. Epidemiol.* **17:** 637-642.
9. Dipineto, L.; Bossa L.M.D.L.; Pace, A.; Russo, T.P.; Gargiulo, A.; Ciccarelli, F.; Raia, P.; Caputo, V.; Fioretti, A., 2015: Microbiological survey of birds of prey pellets. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* **41:** 49-53.
10. Dobrokhotov, B.P.; Meshcheryakova, I.S., 1980: Detection of enzootic territories and exploration of tularemia epizootics in different types of natural foci of this infection by serological examination of bird pellets and the excrements of beasts of prey. *Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology, and Immunology* **24(1):** 97-103.
11. Dravecky, M.; Obuch, J., 2009: Contribution to the knowledge on the synanthropization and dietary specialization of the ural owl (Strix uralensis) in urban environment of Kosice city (East Slovakia). *Slovak Raptor Journal* **3:** 51-60.
12. Gromov, I.M.; Egorov, O.V., 1953: Information on the nutrition and economic significance of the Eagle Owl of Eastern Pamirs and Kopet Dag, *Zoologicheskii Zhurnal* **32(5):** 964-978.
13. Hofmann, Th.; Stubbe, M.; Piechocki, R.; Heidecke, D.; Samjoa, R. et al., 2005: Zur Nahrungsokologie des Uhus *Bubo bubo* in der Mongolei. Erforschung biologischer Ressourcen der Mongolei, 413-417.
14. Kloubec, B.; Bufka, L.; Obuch, J., 2005: Ural Owls (Strix uralensis) in Sumava Mountains: population increase, new records and notes to diet composition. *Buteo* **14:** 69-75.
15. Kudryavtseva, T.Y.; Trankvilevskii, D.V.; Mokrievich, A.N.; Popov, V.P.; Morozova, N.S.; Zarochentsev, M.V.; Mazepa, A.V.; Okunev, L.P.; Kholin, A.V.; Kosilko, S.A.; Fedorov, Y.M.; Khramov, M.V.; Dyatlov, I.A., 2016: Epizootic and Epidemic Situation on Tularemia in the Russian Federation in 2015 and Prognosis for 2016. *Problems of especially dangerous infections* **1:** 28-32.
16. Lapshin, A.S.; Andreychev, A.V.; Kuznetcov, V.A., 2018: Daily and

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

seasonal dynamics of the vocalization of the Eagle Owl (*Bubo bubo,* Strigiformes, Strigidae) in the central Volga region. *Zoologicheskii Zhurnal* **97(1):** 89-100.
17. Magnino, S.; Frasnelli, M.; Fabbi, M.; Bianchi, A.; Zanoni, M.G.; Merialdi, G.; Pacciarini, M.L.; Gaffuri, A., 2011: The monitoring of selected zoonotic diseases of wildlife in Lombardy and Emilia-Romagna, northern Italy. *Game meat hygiene in focus.* 223-244.
18. Mikkola, H., 1983. Owls of Europe. Buteo Books. Vermillion, South Dakota, 475.
19. Nafeev, A.A.; Khaisarova, A.N.; Sibaeva, E.I.; Zhukova, E.Y.; Simonova E.G., 2016: Epizootiological monitoring in tularemia surveillance. *Epidemiology and infectious diseases. current issues* **1:** 12-17.
20. Obuch, J.; Danko, St.; Mihok, J.; Karaska, D.; Simak, L., 2013: Diet of the Ural owl (Strix uralensis) in Slovakia. *Slovak Raptor Journal* **7:** 59-71.
21. Popov, V.P.; Vatlina, T.V.; Vorob'eva, M.V.; Orlov, D.S.; Bezsmertny, V.E., 2017: Zoning of the Smolensk Region by the Degree of Potential Epidemic Hazard of Natural Tularemia Foci. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]* **4:** 62-65.
22. Sidorovich, V.E.; Shamovich, D.I.; Solovey, I.A.; Lauzhel, G.O., 2003: Dietary variations of the Ural Owl (*Strix uralensis*) in the transitional mixed forest of northern Belarus with implications for the distribution diff erences. *Ornis Fennica* **80(4):** 145-158.
23. Sharikov, A.V.; Kholopova, N.S.; Volkov, S.V.; Makarova, T.V., 2009: The review of owls diet in Moscow city and Moscow region. In: Volkov, S. V., ed.-in-chief, Sharikov, A. V. and Morozov, V. V., eds. Owls of The Northern Eurasia: Ecology, spatial and habitat distribution. Moscow, 188-203.
24. Shehab, A.H., 2004: Diet of the Eagle Owl, *Bubo bubo*, in Syria. *Zoology in the Middle East* **33:** 21-26.
25. Tärnvik, A.; Priebe, H.; Grunow, R., 2004: Tularaemia in Europe: an epidemiological overview. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* **36(5):** 350-355.
26. Trankvilevskii, D.V.; Udovikov, A.I.; Popov, V.P.; Zakharov, K.S.; Popov, N.V.; Bezsmertny, V.E., 2015: The state of rodent numbers and the epidemiological situation of tularemia in the territory of the Russian Federation in the second half of 2014 and the forecast for 2015. *Problems of especially dangerous infections* **1:** 30-35.
27. Tsvirko, L.S.; Selkina, E.S.; Kozlov, A.M., 2015: Tularemie in the Belarusian Polesie. Part I. Period 1946-2000. *Bulletin of Polessky State University* **2:** 49-56.
28. Tsvirko, L.S.; Selkina, E.S.; Sencovets, T.A.; Kozlov, A.M., 2016: Tularemie in the Belarusian Polesie. Part II. Period 2001–2015. *Bulletin of Polessky State University* **1:** 34-40.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

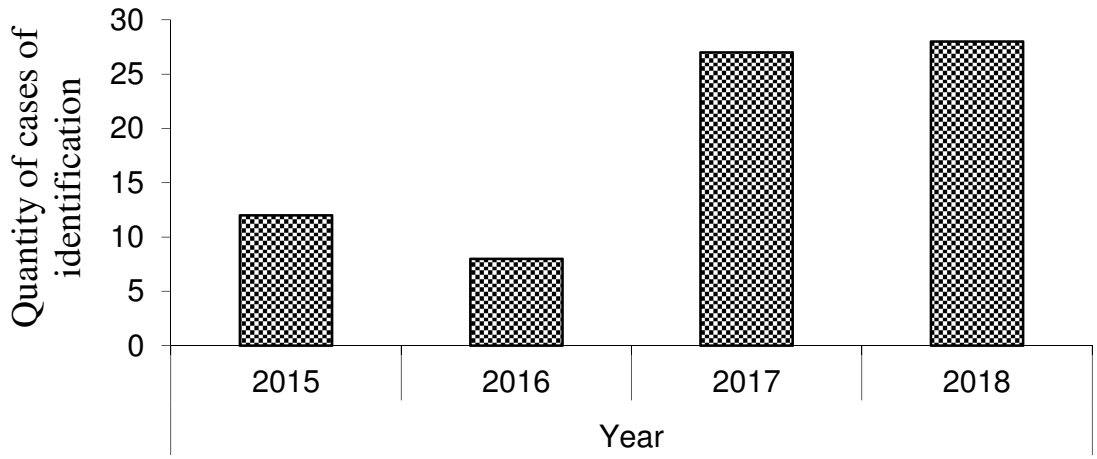


Figure 1. Dynamics of detection of tularemia microbe antigen among small mammals in the region

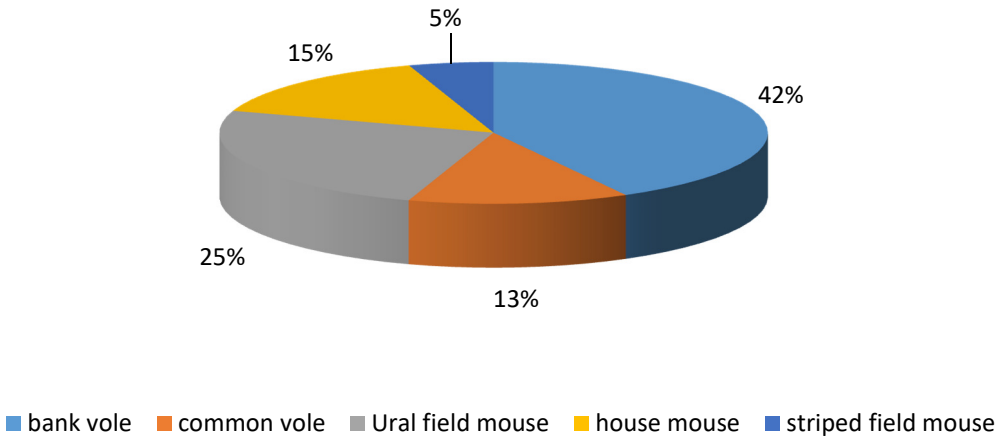


Figure 2. The structure of the population of rodents involved in the circulation of tularemia

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ESTUDO PRELIMINAR SOBRE O EFEITO DA GEOMETRIA DO PINO NO PROCESSO DE SOLDAGEM FHPP ENTRE O FERRO FUNDIDO NODULAR FE55006 E O AÇO SAE 8620

PRELIMINARY STUDY ON EFFECT OF ROD GEOMETRY IN FHPP BETWEEN FE55006 NODULAR CAST IRON AND SAE 8620 STELL

MARTINAZZI, Douglas[1*]; LEMOS, Guilherme V. B.[1]; LANDELL, Renan M.[1], BUZZATTI, Diogo T.[1]; BRUSIUS, André[1]; REGULY, Afonso[1].

[1] Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Programa de Pós Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais (PPGE3M), Av. Bento Gonçalves, 9500 - Agronomia, 91509-900, Porto Alegre/RS - Brasil (fone: +55 51 3308 3565)

** Autor correspondente*
e-mail: martinazzi.douglas@gmail.com

Received 25 October 2018; received in revised form 29 November 2018; accepted 1 December 2018

RESUMO

A aplicação das ligas de ferro fundido nodular é uma ótima alternativa na fabricação de eixos motores devido às propriedades e características deste material. Porém, a necessidade de unir os eixos a engrenagens e outros componentes metálicos fabricados em aço impõe dificuldades ao projeto e aos processos de fabricação. Os métodos tradicionais de união com fusão, aplicados a materiais metálicos ferrosos dissimilares, são pouco estudados. Neste contexto, é sabido que materiais diferentes possuem pontos de fusão distintos e podem ocasionar dificuldade na soldagem, além de defeitos de solidificação. Portanto, métodos modernos de união, como o processo *Friction Hydro Pillar Processing (FHPP)*, são uma ótima alternativa. Nesta tecnologia, um pino consumível é rotacionado contra uma base, gerando o calor necessário, promovendo materiais no estado plástico e formando a solda. Assim, este trabalho apresenta o estudo preliminar do processo FHPP entre o ferro fundido nodular FE55006 e o aço SAE 8620 e avalia a influência da geometria do pino na microestrutura e nas tensões superficiais das juntas soldadas. Foram utilizadas duas geometrias de pino e produzidas duas soldas. Os resultados indicaram que um aumento na área de contato do pino promoveu uma menor tensão superficial, assim como uma melhor junta soldada.

Palavras-chave: FHPP, ferro fundido nodular, SAE 8620, tensão superficial.

ABSTRACT

Nodular cast irons are an excellent alternative in manufacturing process of axels due to their characteristics and good mechanical properties. However, the necessity of joining the axels to the gears and other components, made in carbon steel, is a great challenge. Traditional fusion welding methods applied to dissimilar ferrous materials are not deeply studied. In this context, it is well known that different materials have distinct melting points which can cause difficulty in welding, besides of defects formation from solidification. Therefore, modern joining processes such as Friction Hydro Pillar Processing (FHPP) are a great alternative. In this technology, a consumable rod is rotated against to a base material, generating the heat due to the friction, promoting materials in the plastic state and then producing the weld. Hence, this work presents a preliminary study of FHPP between the FE55006 nodular cast iron and SAE 8620 steel and evaluates the rod geometry influence on microstructure and surface stresses of the welded joints. Two rod geometries were used and two welds were further produced. The results indicated that an increase in the rod contact area promoted a lower surface stress as well as a better welded joint

Keywords: FHPP, nodular cast iron, SAE 8620, surface stress.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

Os princípios básicos da metalurgia e o diagrama Fe-C indicam que os aços são ligas à base de ferro-carbono que possuem menor porcentagem de C, em comparação aos ferros fundidos. Assim, de modo geral, os ferros fundidos tendem a apresentar maior dureza do que os aços. Segundo Chiaverine 2005, as ligas de ferro fundido nodular caracterizam-se pela ductilidade, tenacidade e resistencia mecanica. Algumas ligas podem chegar até 820 MPa de resistencia a tração. Neste contexto, o ferro fundido nodular da série FE 55006 é comumente utilizado em componentes que necessitam de elevada resistência ao desgaste e à tração. Além disso, as ligas de ferro fundido nodular são frequentemente utilizadas em plantas de energia eólica para a fabricação dos componentes do rotor, de eixos, dos suportes dos rolamentos e na estrutura em geral devido a boa resistência combinada com a tenacidade apropriada, mesmo em baixas temperaturas (Heine, Bezold e Broeckmann, 2018). Com um custo relativamente baixo (em comparação ao aço), a liga possui uma boa demanda por parte da indústria (Mundo Da Usinagem, 2010). Porém, o ferro fundido possui uma baixa soldabilidade devido ao alto carbono equivalente que pode variar entre 3,0 a 5,0% dependendo da liga (Zeemann, 2003). Essa característica dificulta a união do material através dos processos de soldagem tradicionais a arco elétrico, uma vez que possibilita a criação de microestruturas que podem fragilizar o material. Dependendo da velocidade de resfriamento, e da temperatura atingida durante o processo, pode ocorrer a transformação do ferro fundido nodular em ferro fundido branco (extremamente frágil) ou o metal de solda em um aço temperado (Zeemann, 2003). Por outro lado, o aço carbono SAE 8620 é conhecido por sua boa temperabilidade e soldabilidade, além de ser diversas vezes utilizado como aço para cementação.

Processos de soldagem tradicionais como eletrodo revestido, MIG/MAG, TIG, entre outros, são pouco utilizados para união entre materiais metálicos ferrosos dissimilares. Deste modo, a utilização de métodos modernos de soldagem no estado sólido, como o processo FHPP, para união entre o ferro fundido e o aço carbono torna-se uma ótima opção. O processo de soldagem por fricção já se mostrou eficiente em diversas soldagens de materiais dissimilares. Winiczenko e Kaczorowski (2013) conseguiram soldar barras de 20 mm de diâmetro de ferro fundido dúctil com aço inoxidável AISI 321 e por meio da análise microestrutural verificaram que ocorre difusao entre os elementos de cada material. Os estudos de Choi, Liu e Fujii, 2018, apresentaram chapas de titânio e alumínio unidas pelo processo Friction Stir Welding (FSW), e os autores obtiveram como resultados juntas com resistência a tração próximo de 100 MPa. Soldas dissimilares entre ligas de aços de médio e alto carbono também já foram estudadas e tiveram sua microestrutura final relacionada com os parâmetros utilizados (Ratković *et al,* 2016). Sahin (2005) soldou barras de 10 mm de diâmetro de aço rápido (HSS-S 6-5-2) e aço médio carbono (AISI 1040) pelo processo de soldagem por fricção e conseguiu juntas com com pripriedade mecânicas similares a dos metais base. A técnica foi eficaz na união de materias com temperaturas de fusão distintas. Yasui et al. (2018) conseguiram realizar a união entre barras de de alumínio (AA6063) e de aço (S45C) por meio de uma solda circunferencia pelo processo de FSW. Os autores conseguiram realizar soldas livres de defeitos e com uma resistência mecânica de 117 MPa, um pouco abaixo do materail base. Song et al. (2008) conseguiram soldar com sucesso barras de 20 mm de diâmetro de alumínio (AA 1050) e ferro fundido nodular pelo processo de *rotary-friction-welding*. No estudo, os autores verificaram que a formação de intermetálicos concentrace na pareferia da junta, o que reduz a resistência mecânica nessa área.

O processo FHPP é uma técnica utilizada para reparos em estruturas metálicas. Após a identificação do defeito, um procedimento de usinagem é realizado para a remoção do volume de material onde o defeito está localizado, deixando um furo com profundidade e geometria na superfície da estrutura. Assim, o reparo ocorre por meio do preenchimento do furo com um pino consumível, que ao entrar em contato com o fundo do furo, em alta velocidade rotacional e dada força axial gera o atrito necessário entre as superfícies, promovendo o aquecimento e a plastificação do material do pino e da superfície do furo previamente usinado (Landell, 2016; Chludzinski, 2011). O processo pode ser divido em cinco etapas conforme apresentado na Figura 1: (i) o pino é rotacionado até a velocidade pré-determinada e aproximação do furo; já nas etapas (ii) e (iii) o pino entra em contato com o fundo do furo e o calor é gerado a partir do atrito

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

resultante da força compressiva de contato entre as superfícies, ocasionando a plastificação e o preenchimento da cavidade conforme o pino é inserido no furo; na etapa (iv) a rotação é interrompida, podendo a força axial ser mantida ou aumentada, caracterizando a etapa conhecida como forjamento; ao final, etapa (v), o excedente do pino pode ser removido por usinagem e, assim, o reparo vai estar completo (Landell, 2016; Chludzinski *et al*, 2011; Xu *et al,* 2015).

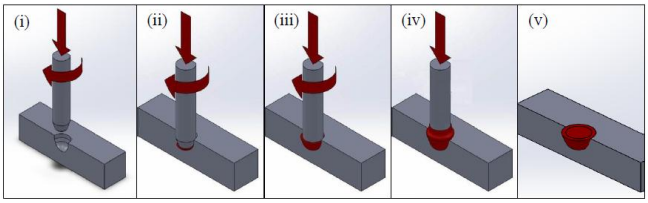


Figura 1. *Etapas do processo FHPP (Landell, 2016).*

Neste método de soldagem, as geometrias do pino e do furo da base são importantes para formação de uma boa solda (Meyer, 2004). Estas características geométricas influenciam o fluxo de material, causando efeito no preenchimento do furo e a expulsão de impurezas (filmes de óxidos, graxas, etc) junto à rebarba (Meyer, 2004; Landell, 2016). Meyer, 2004, realizou diversas soldas variando os raios dos furos e dos pinos e verificou que a utilização de geometrias mais arredondadas evitam o aparecimento de defeitos na ponta do pino. Os estudos de Xu *et al.* 2015, com auxílio da simulação numérica, também mostraram que furos com raios mais arredondados e maiores tendem a resultar em soldas sem defeitos e um melhor escoamento do material plastificado. Ainda, a utilização de uma área de contato maior possibilita a aplicação de forças compressivas mais elevadas, sem que a tensão ideal de soldagem seja superada, principalmente no início do processo, etapa onde o fornecimento de um aporte térmico suficiente é crítico. Assim, uma maior área de contato evita que a ponta do pino se deforme excessivamente no início da solda, e acabe depositando material na parede do furo antes do correto preenchimento e aquecimento dos materiais próximos ao fundo da cavidade (Buzzatti, 2017).

MATERIAIS E MÉTODOS

O processamento dos materiais foi realizado no equipamento MPF 1000, desenvolvido pelo LAMEF – UFRGS. A maquina de soldagem pode ser vista na Figura 2. O equipamento possui uma potência máxima de 132 KW, com velocidade de rotação de até 1750 rpm, um atuador hidráulico com capacidade de carga axial de até 1000 kN e deslocamento vertical de até 150 mm. O material utilizado para fabricação dos pinos foi o ferro fundido nodular FE55006 e para a base o aço ferramenta SAE 8620. Assim, a Tabela 1 mostra as composições químicas da barra utilizada para confeccionar os pinos consumíveis (ferro fundido) e também da barra chata utilizada para fabricar o metal base (aço). A análise da composição química foi realizada com um Espectrômetro de emissão óptica (marca SPECTO - modelo Spectrolab).

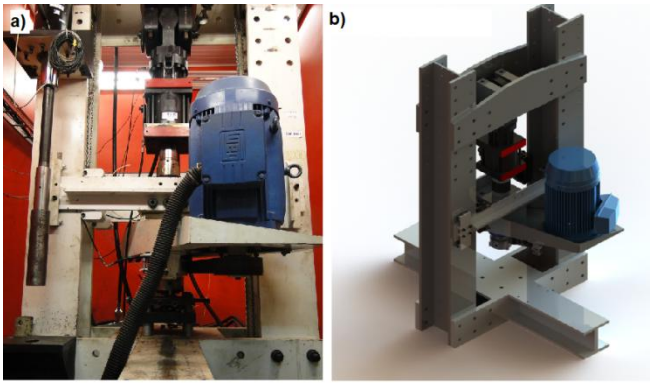


Figura 2. *Equipamento MPF 1000 a) imagem real; b) desenho em solid works.*

Tabela 1. *Composição química (% em massa).*

Elementos	**C**	**Si**	**Mn**	**S**	**Cr**
FE55006	> 2,1	0,690	0,045	0,119	0,009
SAE 8620	0,175	0,221	0,805	0,010	0,455
	Ni	**Cu**	**Mg**	**Al**	**Fe**
	<0,005	<0,01	0,006	0,006	Bal.
	0,40	0,214	<0,01	0,023	97,5

Nesse trabalho foram produzidas duas juntas soldadas para estudo do efeito da geometria do pino na qualidade final da solda através das geometrias ilustradas na Figura 3. Neste contexto, os principais fatores analisados foram: área superficial inicial (representada pelo contato entre o raio da ponta do pino e o raio do fundo do furo) e a variação da área de contato ao longo do comprimento do pino a partir da redução da altura relativa à parte cônica.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

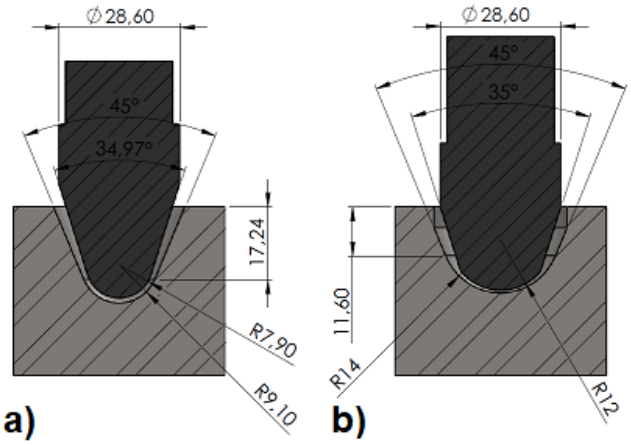


Figura 3. *Geometria e dimensões das juntas soldadas a) amostra 1; b) amostra 2.*

Para a soldagem das amostras foram utilizados os seguintes parâmetros: velocidade de rotação de 1600 rpm, força axial de 50 kN e deslocamento vertical de 7 mm. Para a amostra 1, observou-se um tempo de soldagem menor, em comparação ao tempo de processamento da amostra 2. Portanto, esta diferença pode estar relacionada com a mudança dos raios na ponta do pino, onde a amostra 1 possui um diâmetro menor e, portanto, deformou-se plasticamente com mais facilidade (para a mesma força aplicada).

Após a união entre os materiais, as soldas foram cortadas e prepadadas de acordo com as práticas básicas de metalografia (lixadas e polidas) e, posteriormente, atacadas com o reagente Nital 10%. Por fim, as microestruturas foram analisadas em um microscópio ótico.

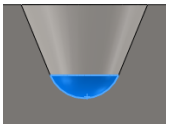
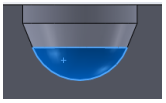
As propriedades mecânicas da melhor solda (amostra 2) foram analisadas através de medições de microdureza realizados na seção transversal da junta soldada. O perfil de microdureza Vicker foi obtido com carga de 300 g e distância entre as indentações de 0,2 mm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Geometria do pino e tensão superficial

A área superficial de contato foi modificada para aumentar o raio da ponta do pino e do furo e a consequente redução da tensão resultante. Portanto, a influência da área superficial em relação à tensão superficial pode ser vista na Quadro 1. Para o cálculo da tensão, assumiu-se que existe o contato entre toda a superfície da ponta do pino com o furo. Segundo Ambroziak e Gul (2007) a geometria do pino e do furo tem papel fundamental na definição dos parâmetros de soldagem.

Quadro 1. *Área superficial da ponta do pino superficial com a tensão.*

Área/Furo	Área - Pino	Área Inicial de contato (mm²)	Altura da parte cônica (mm²)	Tensão (MPa)
AMOSTRA 1 		274,2	22,5	182
AMOSTRA 2 		325,3	15,75	154

Obs: Carga Aplicada: 50 (kN)

O comprimento da seção cônica dos pinos também foi variado, pois a diferença de diâmetros entre o início e o final de cada pino, durante o seu processamento, resulta em um gradiente de tensão a partir do momento em que a carga de soldagem atinge o valor máximo durante o seu processamento. No caso das geometrias utilizadas, a geometria 1 (amostra 1) esteve exposta a uma variação de tensão durante seu processamento mais significativa, tendo em vista que seu diâmetro inicial é menor. Os ângulos de saída para o escoamento do material permaneceram iguais, porém na amostra 2 o ângulo ao longo do furo não é constante. Neste sentido, ao chegar a 5 mm da superfície da base, ele varia para um ângulo de 90° em relação à face. Essa mudança auxilia na retenção do material dentro do furo, possibilitando uma maior pressão hidrostática entre os materiais do pino e da base e, portanto, melhorando o preenchimento e minimizando a possibilidade de formação de trincas nesta região durante o resfriamento.

Caracterização microestrutural preliminar

A Figura 4 apresenta microestruturas não afetadas pelo processo de FHPP, ou seja, os materiais de base. Neste sentido, a Figura 3a mostra a microestrutura do pino fabricado em

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ferro fundido nodular, onde observou-se ferrita e nódulos de grafita. Por outro lado, a microestrutura característica do aço SAE 8620 foi ferrita pró eutetoide e perlita, como pode ser obervado na Figura 3b.

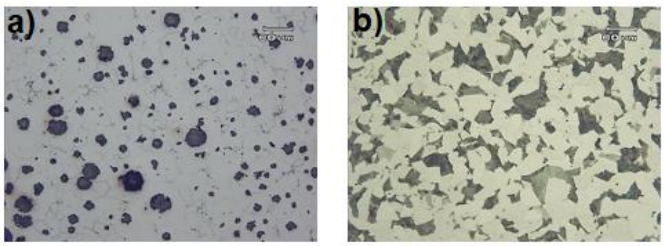


Figura 4. *a) MB pino (ferro fundido); b) MB aço SAE 8620.*

As Figuras 5 e 6 mostram as juntas soldadas produzidas. Para o caso da amostra 1, percebeu-se a falta de preenchimento entre a base do furo e o raio do pino. Além disso, sugere-se que ocorreu um aquecimento excessivo nesta solda, devido a presença de uma grande zona termicamente afetada (ZTA). Por fim, notou-se que esta região (ZTA) não se apresentou de forma uniforme, indicando que o aquecimento foi maior nas laterais do pino do que na base do furo.

Para a análise microestrutural preliminar proposta neste trabalho, as soldas foram analisadas em 3 locais distintos, os quais foram definidos como: região I): corresponde ao meio do pino, região II): a interface inferior (interface entre a ponta do pino e o MB) e região III): a interface lateral entre o pino e o MB.

O resultado da primeira tentativa de soldagem destes materiais, ou seja, a produção da junta soldada correspondente à amostra 1, é mostrado na Figura 5b). Para a região I, meio do pino, Figura 5a), a microestrutura foi perlita e ferrita nos contornos dos nódulos. No caso da região III (Figura 5d), as microestruturas verificadas foram martensita (no limite MB/pino) e, no MB (próximo à interface lateral), observou-se ferrita em forma de agulhas, além de agregados de carbonetos e martensita. Contudo, próximo à interface do pino, não foram observados nódulos de grafita. Por fim, a microestrutura da região II foi perlita e ferrita, além de nódulos de grafita deformados e uma trinca relativamente grande ao longo da seção transversal.

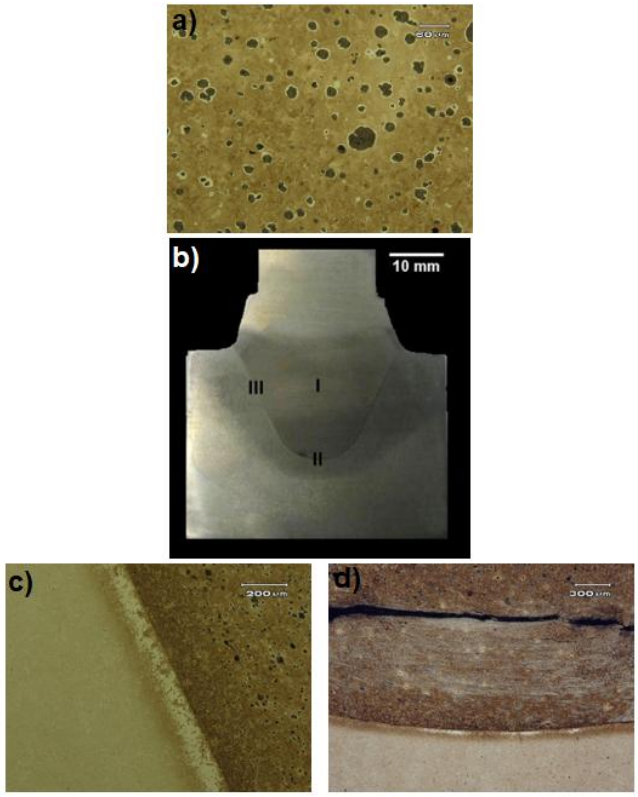


Figura 5. *Junta soldada amostra 1. a) região I, b) macrografia, c) região III e d) região II.*

Diversos trabalhos sobre o precesso FHPP já foram realizados no equipamento MPF 1000 (Landell, 2016; Chludzinski *et al*, 2011; Buzzatti; 2017; Mattei, 2011). De modo geral, pode-se afirmar que a geometria com maior raio na ponta do pino ocasiona uma melhor solda. Portando, baseado no *know-how* adquirido para este equipamento, e a consequente produção de soldas de boa qualidade para diversos materiais (Landell, 2016; Chludzinski *et al*, 2011; Buzzatti, 2017; Mattei, 2011; Figueiredo, 2017; Kanan, 2016) e as estimativas de tensão mostradas no presente trabalho, indica-se que a melhor junta soldada obtida entre o ferro fundido e o aço-C, correspondente a amostra 2, é a apresentada na Figura 6b). Considerando a região I, grande parte da microestrutura se apresentou como perlita e ferrita nos contornos dos nódulos (Figura 6a). As regiões II e III mostraram microestruturas semelhantes às observadas na amostra 1.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

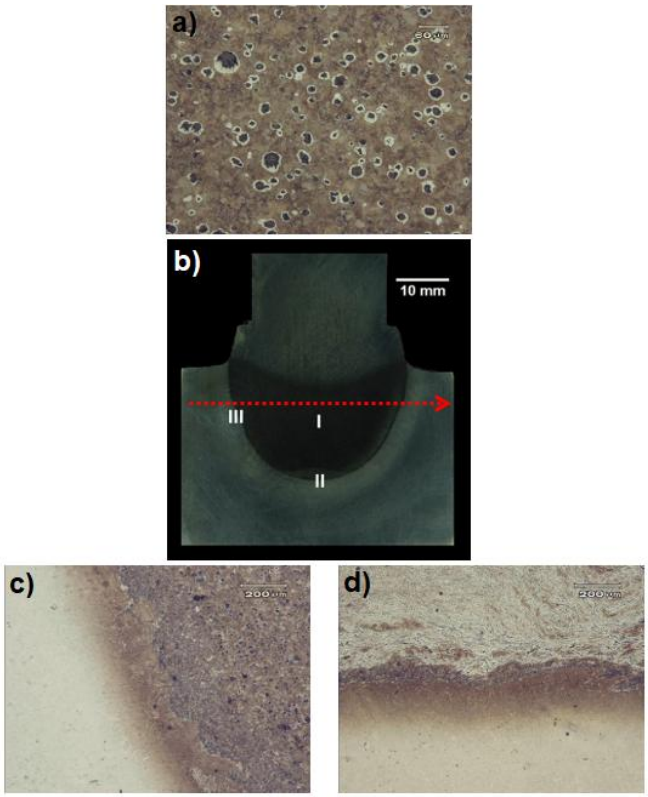


Figura 6. *Junta soldada amostra 2. a) região I, b) macrografia, c) região III e d) região II.*

Microdureza

O perfil de microdureza da amostra 2 é apresentado na Figura 7. As regiões medidas são indicadas pela seta vermelha (Figura 5). O metal de base alcançou valores de dureza menores, estes chegando a aproximadamente 160 Hv. Em direção a junta soldada, perceberam-se picos de dureza de até 705 Hv na interface da solda, fato que pode estar relacionado à formação localizada de martensita. Além disso, também notou-se um leve aumento da dureza na solda. Este aumento da dureza é resultado de altas temperaturas associadas a deformação plástica na região da solda. Estes fatores promoveram a recristalização dinâmica dos grãos e originam uma matriz com grãos refinados, fenômeno comumente observado na aplicação do processo FHPP em diversos materiais (MEINHARDT *et al.*, 2017).

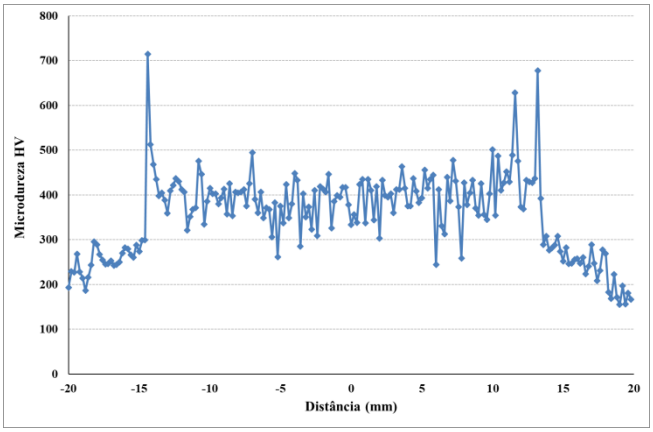


Figura 7. *Perfil de microdureza na seção transversal da amostra 2.*

CONCLUSÕES:

Os resultados deste estudo preliminar sobre o efeito da geometria do pino no processo de soldagem FHPP entre o ferro fundido nodular FE55006 e o aço SAE 8620 podem ser resumidos como:

* a alteração da geometria da ponta do pino (de cônica para circular) promoveu uma redução na tensão aplicada, no início do processo, evitando a deformação excessiva do material do pino e um maior aporte térmico evidenciado pelas macrografias (a ZTA da geometria cônica é maior).

* os resultados de dureza mostraram um leve aumento de dureza na junta soldada. Neste sentido, a formação local de martensita pode ter ocasionado a dureza de 705 Hv. Além disso, o refino de grão promovido pelo processo FHPP ocasionou o aumento de dureza na solda.

REFERÊNCIAS:

1. Heine L.M., Bezold A., Broeckmann C., Long crack growth and crack closure in high strength nodular cast iron. Engineering Fracture Mechanics, [s.l.], v. 192, p.24-53, abr. 2018.

2. GO Mundo da Usinagem: Ferro fundido nodular pode substituir o aço carbono. http://www.tupy.com.br/downloads/pdfs/omu65_15_03_10.pdf

3. Choi J.W., Liu H., Fujii H.. Dissimilar friction stir welding of pure Ti and pure Al.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Materials Science and Engineering: A, [s.l.], v. 730, p.168-176, jul. 2018.

4. Ratković N., Arsić D., Lazić V., Nikolić R.R., Hadzima B. Micro-structure in the Joint Friction Plane in Friction Welding of Dissimilar Steels. Procedia Engineering, [s.l.], v. 149, p.414-420, 2016.

5. Meyer A. Friction Hydro Pillar Processing: Bonding Mechanism and Properties. 2003. 135 p. Master thesis. Gemeinsamen Fakultät Für Maschinenbau Und Elektrotechnik Der Technischen Universität Carolo, Braunschweig, 2004.

6. Landell R.M. Análise do Fluxo de Material no Processo de Soldagem por Fricção com Pino Consumível. 2016. 100 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

7. Chludzinski M., Paes M.P., Bastian F.L, Strohaecker T.R. Fracture Toughness of Friction Hydro-Pillar Processing welding in C-Mn steel. Materials and Design, 2011.

8. Xu Y.C, Jing H.Y, Han Y.D, Xu L.Y. Numerical Simulation of the Effects of Various Stud and Hole Configurations on Friction Hydro-Pillar Processing. International Journal of Mechanical Sciences, China, p. 44-52, 2015.

9. Buzzatti D.T. Avaliação da tenacidade de juntas soldadas por fricção com pino consumível em aço para amarras. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais, Porto Alegre. 2017.

10. Mattei F. Desenvolvimento de Equipamento para Estudo de Soldagem por Fricção. 2011. 166 f. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais, Porto Alegre, 2011.

11. Figueiredo A.P. Caracterização microestrutural e mecânica de juntas soldadas com aço inoxidável duplex UNS S31803 pelo processo Friction Hydro Pillar Processing (FHPP) e Friction Taper Stitch Welding (FTSW). Tese de Doutorado. 2017

12. Kanan L.F. Simulação numérica do processo de soldagem de tubos por atrito com anel rotativo. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais, Porto Alegre. 2016

13. Chiaverini V. Aços e Ferros Fundidos. 2005

14. Zeemann A. A soldagem por fusão para reconstrução de Componentes de Ferro Fundido. Infosolda. 2003

15. WINICZENKO, Radosław; KACZOROWSKI, Mieczysław. Friction welding of ductile iron with stainless steel. Journal Of Materials Processing Technology, [s.l.], v. 213, n. 3, p.453-462, mar. 2013. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.jmatprotec.2012.10.008.

16. SAHIN, Mümin. Joining with friction welding of high-speed steel and medium-carbon steel. Journal Of Materials Processing Technology, [s.l.], v. 168, n. 2, p.202-210, set. 2005. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.jmatprotec.2004.11.015

17. YASUI, Toshiaki et al. Friction stir girth welding between aluminum and steel rods. Procedia Manufacturing, v. 15, p.1376-1381, 2018. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.promfg.2018.07.345.

18. MEINHARDT, C.p. et al. Evaluation of friction hydro-pillar processing welding in duplex stainless steels (UNS S31803). Journal Of Materials Processing Technology, v. 246, p.158-166, ago. 2017. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.jmatprotec.2017.03.010.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

19. SONG, Yu-lai et al. Strength distribution at interface of rotary-friction-welded aluminum to nodular cast iron. Transactions Of Nonferrous Metals Society Of China, v. 18, n. 1, p.14-18, fev. 2008. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/s1003-6326(08)60003-5.

20. AMBROZIAK, Andrzej; GUL, BartŁomiej. Investigations of underwater FHPP for welding steel overlap joints. Archives Of Civil And Mechanical Engineering, v. 7, n. 2, p.67-76, jan. 2007. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/s1644-9665(12)60212-x.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAR A DISSOLUÇÃO DE CINARIZINA EM CÁPSULAS MAGISTRAIS

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF ANALYTICAL METHOD TO QUANTIFY THE DISSOLUTION OF CINARIZIN IN CAPSULES COMPOUNDED

COSTA JUNIOR, Gilberto Ferreira da[1]; DA SILVA, Derly Oliveira[2]; CARNEIRO, Wilsione José[3]*.

[1,2,3] Universidade Federal de Mato Grosso, Curso de Farmácia, Campus Universitário do Araguaia do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Avenida Valdon Varjão, nº 6.390, CEP: 78600-000, Barra do Garças – MT, (fone: (66) 3402-0719)

**Autor correspondente*
e-mail: wilsione.carneiro@hotmail.com

Received 28 October 2018; received in revised form 03 December 2018; accepted 04 December 2018.

RESUMO

A cinarizina (CIN) é usada no tratamento de distúrbios circulatórios cerebrais, circulatórios periféricos e de equilíbrio. Foi desenvolvido e validado um método analítico para determinar a dissolução de cinarizina em cápsulas magistrais, através da espectrofotometria com detecção no ultravioleta. Utilizaram-se as resoluções da Agência Nacional de Vigilância Sanitária de número 899 de 29 de maio de 2003 e 166 de 24 de julho de 2017 como sendo o guia para validação de métodos analíticos. A CIN apresentou alta solubilidade em ácido clorídrico 0,1 mol L^{-1} a 37°C (9,43 mg mL^{-1}), seletividade/especificidade na presença de outros componentes (0,35 %), espectro de absorção máxima em 251 nm; linearidade (r = 0,9993); precisão (DPR $_{\text{Precisão rep.}}$: 0,09 %; DPR $_{\text{Precisão inter.}}$: 1,10 %); exatidão (CQB = 99,9 % , CQM= 99,5 %, CQA= 100,7 %); limites de detecção e quantificação de 0,042 µg mL^{-1} e 0,42 µg mL^{-1}, respectivamente. No parâmetro robustez foi comprovado que o método proposto não sofre variações significativas. O método analítico validado é de fácil execução e apresenta seletividade/especificidade, linearidade, precisão, exatidão, limites de detecção, limites de quantificação e robustez confiáveis. Portanto, o método por espectrofotometria com detecção no ultravioleta é aplicável para determinar CIN em cápsulas magistrais em ensaios de dissolução de modo simples, preciso e com baixo custo.

Palavras-chave: *cinarizina, dissolução e validação de método analítico.*

ABSTRACT

Cinnarizine (CIN) is used in the treatment of cerebral circulatory, peripheral circulatory and balance disorders. An analytical method was developed and validated to determine the dissolution of cinnarizine (CIN) in capsules compounded by ultraviolet detection spectrophotometry. The resolutions of the Agência Nacional de Vigilância Sanitária nº. 899 of May 29, 2003 and nº. 166 of July 24, 2017 were used as the guide for validation of analytical methods. CIN showed high solubility in 0.1 mol.L^{-1} hydrochloric acid at 37 ° C (9.43 mg.mL^{-1}), selectivity / specificity in the presence of other components (0.35 %), maximum absorption spectrum in 251 nm; linearity (r = 0.9999); precision (RSD $_{\text{repet.:}}$ 0.09%, RSD $_{\text{inter.:}}$ 1.10%); accuracy (LQC = 99.9%, MQC = 99.5%, HQC = 100.7%); limits of detection and quantification of 0.042 and 0.42 µg.mL^{-1}, respectively. In the parameter robustness it has been proven that the proposed method does not suffer significant variations. The validated analytical method is easy to perform and has reliable selectivity / specificity, linearity, precision, accuracy, limits of detection, limits of quantification and robustness. Therefore, the ultraviolet detection spectrophotometry method is applicable to determine CIN in capsules compounded in simple, accurate and low cost dissolution assays.

Keywords*: cinnarizine, dissolution, validation method analytical.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

1. INTRODUÇÃO

A cinarizina (CIN) é usada no tratamento de distúrbios circulatórios cerebrais, circulatórios periféricos e de equilíbrio. Os distúrbios circulatórios cerebrais são conhecidos como acidente vascular encefálico, que é uma alteração da circulação cerebral e pode causar a diminuição temporária ou permanente da atividade de segmentos cerebrais (Oliveira, 2012). Os distúrbios circulatórios periféricos são complicações frequentes de patologias crônicas, afetam as artérias, as veias e os vasos linfáticos das extremidades (Leal *et al.*, 2015). Distúrbios de equilíbrio são transtornos na manutenção do equilíbrio normal que resultam de doenças que afetam as vias vestibulares centrais ou periféricas, o cerebelo ou as vias sensoriais envolvidas na propriocepção (Ruwer, 2005).

A CIN (Figura 1) é derivada do piperazínico e possui propriedade vasodilatadora por bloquear os canais de cálcio no músculo liso situado nos vasos periféricos. É um anti-histamínico, sendo antagonista dos receptores de histamina H1. Tem sua absorção no tudo gastrointestinal, a metabolização é hepática, o seu pico plasmático máximo ocorre de duas a quatro horas depois de ingerido e sua excreção é por meio de via renal (Cezarino, 2010).

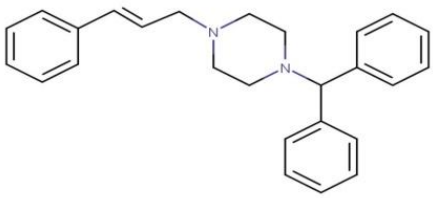


Figura 1. *Estrutura química da CIN*

A CIN (1- difenilmetil – 4 – trans – cinamilpiperazina) apresenta fórmula molecular $C_{12}H_{28}N_2$ e peso molecular de 368,5u. Trata-se de um pó branco ou quase branco, próximo de ser insolúvel em água, com pouca solubilidade em álcool e solúvel em éter e este fármaco pode ser encontrado nas formas farmacêuticas de comprimidos e cápsulas (Cezarino, 2010).

Com o surgimento das farmácias houve a possibilidade de se obter medicamentos manipulados com formas farmacêuticas individualizadas, dosagens distintas e com menor custo de mercado. Com isso, é observado que os medicamentos manipulados como as cápsulas apresentam vantagens, mas ainda possuem limitações no seu controle de qualidade, quando comparados com as produzidas pelas indústrias farmacêuticas, as quais passam por uma inspeção rigorosa e periódica na avaliação da qualidade (Silva, 2010).

Um tratamento terapêutico adequado é conquistado quando o medicamento passa por um controle rotineiro e para garantir a qualidade e a segurança dos produtos farmacêuticos é necessário utilizar métodos analíticos que sejam oficiais ou validados, porque estes irão fornecer resultados confiáveis nas análises dos produtos acabados (Malesuik *et al.*, 2006).

Embora a CIN seja comumente utilizada na terapêutica para distúrbios circulatórios, ainda não há uma monografia específica na Farmacopeia Brasileira que quantifique a dissolução deste fármaco em formulações farmacêuticas sólidas (Malesuik *et al.*, 2006). Por esse motivo, a validação de um método analítico para avaliar a dissolução do fármaco deste trabalho se torna um indicativo importante para determinar a sua solubilidade em cápsulas magistrais.

Diversas instrumentações analíticas são utilizadas para a determinação de CIN. É observado análises por espectrofotometria, cromatografia líquida de alta eficiência, cromatografia gasosa e em camada delgada. Também é encontrado na literatura análises por reações eletroquímicas, de quimiluminescência, de fluorimetria e a eletrocromatografia capilar. Estas diferentes técnicas são utilizadas para detecção e quantificação do fármaco (Gehring *et al*., 2011).

Diante disso, o presente trabalho teve o objetivo de desenvolver e validar um método analítico para quantificar a dissolução de cápsulas magistrais de CIN por espectrofotometria com detecção no ultravioleta de forma rápida, precisa, segura e de baixo custo

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Substância química de referência (SQR), matérias-primas, reagentes e soluções.

A SQR de CIN da Farmacopeia Brasileira foi cedida por uma indústria farmacêutica, lote: 1089. A matéria prima do fármaco da empressa All Chemistry utilizada para a preparação das amostras simuladas foi obtida por doação de uma farmácia localizada na cidade de Barra do Garças (Mato Grosso), lote:

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ALL064419 .

Os reagentes ácido clorídrico (HCl) e o sal fosfato potássico monobásico apresentavam grau de pureza analítica e foram obtidos pela Tédia LTDA, Brasil.

As formulações farmacêuticas manipuladas apresentaram as seguintes matérias primas: CIN, lactose, celulose microcristalina, croscarmelose sódica, dióxido de silício coloidal, lauril sulfato de sódio e estearato de magnésio.

As soluções controle de qualidade correspondem a 3,333 µg mL^{-1}; 6,666 µg mL^{-1}e 9,999 µg mL^{-1} de CIN para os controles de concentração baixa (CQB), média (CQM) e alta (CQA), respectivamente.

O HCl 0,1 $mol.L^{-1}$ foi preparado utilizando 8,4 mL de ácido clorídrico 37 % diluído em água com purificação por osmose reversa em quantidade suficiente para 1 L.

A solução lauril sulfato de sódio 1% foi preparada com a solubilização de 2,5 g em 250 mL de água com purificação por osmose reversa.

O tampão fosfato potássico monobásico 0,05 M com pH 6,8 foi preparada transferindo 6,8 g de fosfato de potássio monobásico para um balão volumétrico de 1 L, posteriormente completou o volume com água purificada por osmose reversa, por fim, solubilizou o sal e homogeneizou a solução. Foi ajustado o pH para 6,8 utilizando ácido fosfórico (85%) e hidróxido sódio (40%).

2.2. Equipamentos

Foram utilizados medidor de pH (Mettler Toledo, mPA210); mesa agitadora (novatecnica, NT-145); balança analítica de precisão digital (Eletronicbalance, FA-2104N); ultraSonic clean (Unique, UltraCleaner 1400); espectrofotômetro (Bioespectro, Espectrofotômetro SP-220); centrifuga (Excelsa baby I, modelo 206) e micropipeta (High tech lab, Labmate+).

2.3. Preparação das amostras simuladas

Foram manipuladas 3 (três) diferentes formulações de cápsulas contendo 75 mg de CIN, denominadas de A, B e C (Tabela 1). Os excipientes utilizados nas preparações das cápsulas deste trabalho também são encontrados em formulações de comprimidos de CIN disponíveis no mercado farmacêutico. Cada formulação foi desenvolvida para apresentar um peso médio de 250,0 mg. Para cada formulação A, B e C foi preparado o seu respectivo placebo, conforme as concentrações estabelecidas na Tabela 1, com exceção da CIN.

Tabela 1 *– Composição e concentração das matérias primas utilizadas nas formulações farmacêuticas A, B e C das cápsulas com 75 mg de CIN.*

Composição	A	B	C
	(%)		
CIN	30,00	30,00	30,00
Lactose	10,00	49,00	34,80
Cel. Mic.	57,00	15,00	30,00
Crosc. Sod.	1,00	1,50	2,00
D. S. C.	0,50	1,00	0,70
L. S. S.	1,00	2,00	1,50
E. M.	0,50	1,50	1,00

Legenda: *Cel. Mic.: celulose microcristalina; Crosc. Sod.: croscarmelose sódica; D. S. C.: dióxido de dilício coloidal; L. S. S.; lauril sulfato de sódio e E. M.; estearato de magnésio.*

2.4. Preparo da solução que contém CIN SQR

A solução contendo a SQR a uma concentração de trabalho de 8,333 µg mL^{-1} de CIN foi preparada, solubilizando-se 83,33 mg do fármaco em 100,0 mL de HCl 0,1 mol L^{-1}. Foram feitas diluições sucessivas com o mesmo solvente até obter a concentração de trabalho desejada (8,333 µg mL^{-1}).

2.5. Preparo de soluções amostrais

O conteúdo de 20 cápsulas magistrais de CIN, preparadas conforme demonstrado na Tabela 1, foi homogeneizado e uma quantidade de pó equivalente a 83,33 mg do fármaco foi pesada e transferida para balão volumétrico de 100,0 mL, foi adicionado 50,0 mL de HCL 0,1 mol L^{-1} e o balão volumétrico foi levado ao ultrassom por 20 minutos. Após a solubilização da CIN a solução foi filtrada em papel de filtro faixa preta e em seguida, transferiu-se uma alíquota de 1,0 mL do filtrado para um balão volumétrico de 100,0 mL, o qual teve seu volume completado com o solvente HCl 0,1 mol L^{-1} (concentração de trabalho 8,333 µg mL^{-1}) .

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

2.6. Padronização analítica do método

As soluções foram analisadas por espectrofofômetria no ultra violeta e as absorbâncias das amostras foram obtidas através de um comprimento de onda de 251 nm, utilizando uma cubeta de quartzo de 1 cm contendo 1 mL. Para obtenção do branco foi utilizado o solvente HCl 0,1 mol L^{-1} sem adição de componentes para ajuste do zero. As leituras das soluções foram realizadas em triplicatas e os experimentos foram conduzidos ao abrigo da luz.

2.7. Validação do método analítico por espectrofotometria na região do UV

O método foi validado conforme preconizado nas resoluções de n° 899 de 29 de maio de 2003 e de n° 166 de 24 de julho de 2017, ambas são referentes ao guia para validação de métodos analíticos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. As recomendações da ICH *(The international Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceutical for Human Use)* também foram utilizadas neste trabalho. Os parâmetros avaliados foram: solubilidade, seletividade/especificidade, linearidade, exatidão, precisão, limite de detecção e quantificação e robustez.

2.7.1 Solubilidade

A solubilidade foi determinada por acréscimo de excesso de amostra e para executar este teste foram selecionados três meios diferentes que simulam as soluções do trato gastrointestinal (TGI). Os meios utilizados foram: HCl 0,1 mol L^{-1}, solução lauril sulfato de sódio 1,0 % e tampão fosfato de potássio monobásico 0,05 mol L^{-1} pH 6,8. Foram distribuídos 9 erlenmeyer's com capacidade de 50 mL em uma mesa agitadora com ajuste para rotação de 100 rpm. Em cada erlenmeyer foi adicionado 20 mL do respectivo meio que simula o TGI e, posteriormente 10 mg da matéria prima de CIN. O estudo em cada meio foi realizado em triplicata. A cada hora foi adicionado 10,0 mg em todos os erlenmeyer durante o tempo de 24 horas, sob agitação constante e em temperatura ambiente. Após o término do tempo as amostras foram centrifugadas a 2.000 rpm por 10 minutos e filtradas em papel de filtro faixa preta, separou o sobrenadante e transferiu uma alíquota de 0,1 mL de cada condição para balões volumétricos de 100,0 mL. As amostras foram diluidas com o seu respectivo meio que simulam as soluções do TGI e, posteriormente fez a leitura no espectrofotômetro UV no comprimento de onda de 251nm.

A fim de evitar uma velocidade de dissolução lenta de CIN, também foi determinado neste trabalho a condição *Sink* em HCl 0,1 mol L^{-1}, solução lauril sulfato de sódio 1,0 % e o tampão fosfato potássico monobásico 0,05 mol L^{-1} pH 6,8 para um volume de meio de dissolução de 900,0 mL. Este estudo teve a finalidade de impedir que a concentração da CIN no volume do meio de dissolução avaliado aproxime da concentração de saturação do fármaco.

A solubilidade da CIN foi calculada pela fórmula 01, enquanto que a condição *Sink* pela fórmula 02:

SOL.(mg/mL)= RAxCPxVB/RPxVP (Fórm. 1)
Legenda: *SOL.= solubilidade; RA= resposta da amostra; CP= concentração da SQR; VB= volume do balão; RP= resposta da SQR e VP= volume pipetado.*

CS= SOL(mg/mL)xVM(900,0mL)/DR (Form.2)
Legenda: *C.S.= condição sink; SOL.= solubilidade; VM= volume do meio e DR= dosagem rotulada.*

2.7.2 Seletividade/Especificidade

A seletividade/especificidade foi determinada através da avaliação da interferência dos excipientes nas formulações A, B e C demonstradas na Tabela 1. Foram analisadas as soluções destas amostras simuladas e a que continha a SQR na concentração de 8,333 µg mL^{-1} e as soluções placebos referentes as formulações A, B e C. Todas foram diluídas em HCl 0,1 mol L^{-1}. Para obtenção do branco foi utilizado o solvente HCl 0,1 mol L^{-1} sem adição de componentes para ajuste do zero. As soluções foram filtradas em papel de filtro faixa preta anteriormente às varreduras espectrais na faixa de 200 a 400 nm do ultravioleta.

2.7.3 Linearidade e faixa

Para a determinação da linearidade foram preparadas cinco soluções de CIN SQR em concentrações distintas na faixa de 3,333 µg mL^{-1} a 9,999 µg mL^{-1}. Para a construção de cada

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ponto da curva de calibração foram preparadas as soluções nas concentrações de 3,333; 4,999; 6,666; 8,333 e 9,999 µg mL^{-1}. Após a obtenção dos dados a linearidade foi estimada por regressão linear.

2.7.4 Exatidão

A exatidão do método foi avaliada pela leitura das soluções referentes ao CQB, CQM e CQA, de modo a compreender a faixa de linearidade do método. Cada concentração foi preparada em triplicada totalizando 9 (nove) determinações. Os valores de recuperação, expressos em porcentagem, foram registrados a partir das respostas analíticas obtidas em função da quantidade teórica de padrão adicionado.

2.7.5 Precisão

O teste foi avaliado pelas precisões do tipo repetibilidade e intermediárias aceitas como as mais recomendáveis, já que possuem um maior fator de representatividade das variações laboratoriais. Foram analisadas as variações de analistas em dias diferentes, com objetivo de garantir que os resultados do método não serão alterados dentro de um mesmo laboratório. Os resultados obtidos foram analisados e foi avaliado o desvio padrão relativo (DPR), respeitando o intervalo linear do método e foram utilizadas neste ensaio de precisão a avaliação do CQB, CQM e CQA. Cada determinação foi preparada em três replicas e lidas em triplicata (Brasil, 2003).

2.7.6 Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ)

Os LD e LQ foram determinados a partir da leitura em triplicata por espectrofotometria no ultravioleta de concentrações com redução gradativa de concentração com partida em 0,8333 µg mL^{-1} para ambos os limites. Os LD e LQ foram determinados em até $4{,}16x10^{-3}$ µg mL^{-1} e $4{,}16x10^{-1}$ µg.mL^{-1}, respectivamente. As avaliações dos resultados foram feitas pelo desvio padrão relativo dos resultados obtidos.

2.7.7 Robustez

Foi determinada a partir de soluções na concentração de trabalho de 8,333 µg mL^{-1}, variando-se tempo de extração em minutos (min.) (10 e 20 min.), concentração de ácido clorídrico (0,09 e 0,1 M), comprimento de onda (250 e 251 nm), desaeração (com e sem aeração), diferentes marcas do solvente (Tedia e Vetec) e pH da solução de HCl 0,1 mol L^{-1} (1,2 e 1,4).

2.7.8 Avaliação da estabilidade de CIN no meio de dissolução

Foram preparadas soluções de CIN com a SQR e com a amostra simulada das cápsulas da formulação A em HCl 0,1 mol L^{-1} na concentração de trabalho de 8,333 µg mL^{-1} do fármaco. Ambas as soluções foram mantidas em temperatura ambiente (25 ºC ± 0,2 ºC), por um período de 15 horas. As soluções foram analisadas por espectrofotometria no ultravioleta em 251 nm.

2.8 Análises estatísticas

A análise estatística dos dados foi realizada através da resposta dos resultados de cada teste avaliado, por meio de análise de variância (ANOVA). A avaliação estatística dos resultados foi realizada utilizando o software Excell® *(Microsoft, 2007).*

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para que um método analítico seja considerado validado é necessário que o mesmo demonstre resultados confiáveis e reprodutíveis, assegurando ser adequado para a sua finalidade planejada, a partir de uma substância amostral especifica para este fim (Matioli *et al*., 2004). Uma vez que o método se torna validado este poderá ser utilizada em estudos de controle de qualidade (Silva *et al*., 2006).

Ao avaliar o Sistema de Classificação Biofarmacêutica da CIN foi observado que o fármaco apresenta baixa solubilidade e alta permeabilidade (Classe II). Diante disso, a dissolução é a etapa limitante da absorção. Neste estudo foi avaliado a solubilidade do fármaco e determinou, nas condições estabelecidas para o ensaio de dissolução, se a condição *Sink* seria cumprida.

Os resultados da solubilidade e da condição *Sink* de CIN pelo teste de saturação em *shake-flask* nos diferentes meios que simulam o TGI estão demonstrados na Tabela 2. De acordo com os resultados encontrados, a CIN apresentou maior solubilidade em HCl 0,1 mol L^{-1} (9,431 mg mL^{-1}), quando comparados com os meios solução lauril sulfato de sódio 1,0 %

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

(0,2123 mg mL^{-1}) e tampão fosfato potássico monobásico 0,05 mol L^{-1} pH 6,8 (0,0321 mg mL^{-1}). Gu e colaboradores (2005) confirmaram em seus trabalhos que a CIN é uma base fraca com baixa solubilidade em solventes aquosos e sua solubilidade é altamente dependente de pH ácido. Isso é comprovado neste estudo através do resultado de solubilidade encontrado para HCl 0,1 mol L^{-1} (9,431 mg mL^{-1}) e demonstrados na Tabela 2.

Tabela 2 *– Resultados de solubilidade e condição Sink de CIN em HCl 0,1 mol L^{-1}, lauril sulfato de sódio a 1,0 % e tampão fosfato potássico monobásico 0,05 M, pH 6,8 obtidos no teste de solubilidade ao término de 24 horas.*

Meio TGI	Sol.(mg/mL)	C. S.
HCL 0,1 mol L^{-1}	9,41	112,93
	9,45	113,45
	9,43	113,17
Média	9,43	113,18
L. S. S. 1,00 %	0,22	2,55
	0,21	2,54
	0,20	2,55
Média	0,21	2,55
T. F.P.M 0,05 M pH; 6,8	0,03	0,36
	0,03	0,39
	0,03	0,38
média	0,03	0,38

Legenda: HCL: *Ácido clorídrico; L. S. S.: Lauril sulfato de sódio; T. F. P. M.: Tampão fosfato de potássio monobásico.*

Os valores encontrados de condição *Sink* nos meios HCl 0,1 mol L^{-1} (113,1827), solução lauril sulfato de sódio 1,0 % (2,5484) e solução tampão fosfato potássico monobásico 0,05 mol L^{-1} pH 6,8 (0,3860) demonstraram que esta condição é favorável em HCl 0,1 mol L^{-1}. Esta comprovação pode ser confirmada quando se obtém como resultado o valor mínimo de 3 para a condição *Sink* (USP 38, 2015).

A condição *Sink* é um parâmetro a ser estudado quando se realiza ensaios de dissolução em controle de qualidade de medicamentos. É definida levando em consideração que o volume do meio de dissolução deve ser no mínimo 3 (três) vezes superior ao necessário daquele utilizado para atingir a saturação do fármaco, e que volumes abaixo desta condição poderiam levar a uma dissolução lenta por causa daaproximação do volume utilizado para atingir a concentração de saturação. Para os ensaios de dissolução é sugerido que o volume do meio varie entre 500 a 1000 mL (Emmanuel, 2010; Brasil, 2010).

Ao levar em consideração os valores encontrados de solubilidade e condição *Sink*, é observado que o melhor meio de dissolução para este trabalho é HCl 0,1 mol L^{-1}. Este meio garantirá nos ensaios de dissolução a solubilidade adequada de CIN em cápsulas magistrais. Como está demonstrado na Tabela 2, a solubilidade da CIN nos demais meios foi considerada insatisfatória e os resultados de condição *Sink* encontrados não atingiram o mínimo de 3 (três) que é o estabelecido pela Farmacopeia Norte Americana (USP 38, 2015).

Os valores de solubilidade e condição *Sink* encontrados neste trabalho para HCl 0,1 mol L^{-1}, estão em conformidade com o estabelecido pela literatura, e com isso é considerado o meio de dissolução adequado para realizar o desenvolvimento e a validação do método analítico para avaliar a dissolução de CIN em cápsulas magistrais.

Para o desenvolvimento do método analítico de dissolução foi realizado uma varredura entre 200 a 400 nm para determinar o comprimento de onda para a análise de CIN por espectrofotometria na região do ultravioleta. O pico máximo de absorção foi observado em 251 nm e o espectro obtido pela varredura demonstrou eficácia satisfatória na avaliação do fármaco para métodos quantitativos.

A especificidade/seletividade foi determinada e os valores de interferência encontrados para as formulações placebo A (0,35%), B (0,07%) e C (0,21%) com o solvente HCl 0,1 mol L^{-1}, garantiram a não interferência dos excipientes e impurezas em relação a detecção e quantificação de CIN. A resolução de n.º 166 de 24 de julho de 2017, que dispõe sobre validação de métodos analíticos preconiza interferência menor que 2,0 %. Isso comprova a capacidade deste método analítico de ser seletivo e também demonstra ser específico para quantificar o fármaco em estudo de dissolução, pois os excipientes analisados apresentaram baixa interferência no comprimento de onda de 251nm.

A linearidade demonstra a capacidade do método em apresentar resultados diretamente proporcionais à concentração de analito adicionados na amostra. Este parâmetro foi demonstrado através da curva analítica obtida a partir de cinco concentrações entre uma faixa de

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

3,333 a 9,999 µg mL^{-1}. A curva analítica pode ser descrita por meio da equação y = 0,0043x + 0,0547, que foi obtida através do método estatístico dos mínimos quadrados, e retrata um coeficiente de correlação linear de r = 0,9993. O valor obtido neste parâmetro está de acordo com o mínimo declarado para aprovação, sendo este de 0,999 (Brasil, 2003). O resultado encontrado conseguiu atender o critério mínimo aceitável, que foi demonstrado pela curva analítica obtida no intervalo de concentrações de 3,333 a 9,999 µg mL^{-1}. Portanto, fornece resultado linear e diretamente proporcional à concentração de CIN na solução de HCl 0,1 mol L^{-1}.

A recuperação foi determinada pela relação da concordância entre os valores teóricos do analito adicionados a solução e a quantidade real que foi recuperada pelo método analítico. Os resultados da recuperação estão expressos na Tabela 3. De acordo com os dados obtidos, os valores de recuperação encontrados ficaram na faixa de 99,5 a 100,7 %. É recomendável uma recuperação entre 98,0 a 102,0 % (Brasil, 2017). Os resultados obtidos são inferiores aos 2 % de variação que é preconizado pela resolução de validação de método analítico em 2017, sendo aceitável para análise estatística do método proposto. Pela análise dos dados foi concluído que este parâmetro possui os resultados dentro das adequações preconizadas, o que garante uma exatidão na aplicabilidade do método para ensaios de dissolução do fármaco.

Os ensaios de repetibilidade e precisão intermediária do método analítico foram realizados com três níveis de concentrações diferentes (CQB; CAM e CQA), em dias e com analistas diferentes e apresentaram DPR que variaram entre 0,09 a 1,10 %. Na Tabela 4 está representado o DPR dos controles de qualidade avaliados para os testes de repetibilidade e de precisão intermediária. Os resultados apresentaram valores de DPR inferiores a 5,0 %, que é o aceitável pelo guia de validação de métodos analíticos e bioanalíticos da resolução 899 de 29 de maio de 2003. Assim, os valores obtidos pela análise estatística neste ensaio demonstraram uma precisão aceitável e está em conformidade com a literatura.

Os resultados de LD e LQ foram de 0,042 µg mL^{-1} e 0,42 µg mL^{-1}, respectivamente. A avaliação foi feita pelo DPR dos resultados obtidos não podendo ultrapassar 5,0 % do preconizado como ideal (Brasil, 2017). Estes valores obtidos, demonstram que as análises realizadas nas concentrações referentes ao intervalo da linearidade (3,333 a 9,999 µg mL^{-1}), proporcionam confiabilidade nos resultados encontrados, e assegura que o método proposto pode detectar e quantificar concentrações baixas com segurança e é adequado aos objetivos propostos deste trabalho.

A robustez demonstra a capacidade que o método apresenta em resistir a pequenas variações dos parâmetros analíticos, e caso haja alteração no procedimento os resultados devem permanecer confiáveis. Foram verificados o comportamento dos dados obtidos em relação ao tempo de extração em minutos, concentração de ácido clorídrico, comprimento de onda, desaeração (com e sem aeração), diferentes marcas do solvente e pH da solução de HCl 0,1 mol L^{-1}. Os dados experimentais obtidos para robustez estão demonstrados na Tabela 5.

Os valores encontrados foram submetidos à análise estatística, realizada através do DPR, e os resultados obtidos ficaram menores que 2,0 %, o que demonstra que o método proposto mantém as respostas confiáveis mesmo com deliberadas variações. Pode-se constatar que o método analítico por espectrofotométrico no UV é robusto nas condições avaliadas e não apresentou modificações significativas após análise das amostras.

A estabilidade da CIN em HCl 0,1 mol L^{-1} foi avaliada, a fim de verificar possível degradação do fármaco. O resultado encontrado na variável estabilidade das soluções e que está apresentada na Tabela 5, demonstra que as soluções que contém a SQR e amostras com CIN são estáveis por até 15 horas após o preparo. A avaliação foi feita pelo DPR dos resultados obtidos não podendo ultrapassar 2,0 % do preconizado como ideal (Brasil, 2017) Por este dado obtido, é possível quantificar o fármaco de maneira robusta até o limite de tempo estabelecido pelo teste de estabilidade das soluções analíticas.

A partir dos resultados encontrados nos parâmetros avaliados de validação deste trabalho e de acordo com as condições descritas no Teste de Dissolução do Volume I da Farmacopeia Brasileira 5ª Edição, o método espectrofotométrico por UV apresenta como condição analítica o meio de dissolução HCl 0,1 mol L^{-1} (900,0 mL a 37º C), aparato número 1 com rotação de 100 rpm e tempo de dissolução de 60 minutos.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Para a realização do teste de dissolução em análise de rotina no controle de qualidade de cápsulas magistrais que contém cinarizina, deve-se proceder o ensaio da seguinte maneira. Após o tempo de 60 min. de dissolução, deve-se retirar uma alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em HCl 0,1 mol L^{-1} até concentração 8,333 µg mL^{-1}. As absorbâncias devem ser medidas em 251 nm, utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Em seguida, deve-se calcular a quantidade de CIN dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de CIN SQR na concentração de 8,333 µg mL^{-1}, preparada com HCl 0,1 mol L^{-1}. Após o tempo de dissolução a quantidade de CIN em 6 (seis) cápsulas magistrais deve apresentar em 1º Estágio uma tolerância de não menos que 80 + 5 % da sua quantidade declarada para ser considerada aprovada.

4. CONCLUSÃO

O método espectrofotométrico para quantificar a dissolução de CIN em cápsulas magistrais, mostrou-se especifico, linear, exato, robusto e sensível no intervalo de concentração de 3,333 a 9,999 µg mL^{-1}. Portanto, o método analítico proposto apresenta validado e é de fácil execução, apresenta reprodutibilidade, baixo custo, confiabilidade e segurança nos resultados. A partir disso, é considerado como uma alternativa para a realização do teste de dissolução em cápsulas de CIN manipuladas em farmácias.

5. REFERÊNCIAS

1. BRASIL. Anvisa. RE nº 67, de 08 de outubro de 2007. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF. 09 out. **2007**.
2. BRASIL, Anvisa. Resolução Específica – RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Diário Oficial da União, 02 de jun. de 2003. Disponível em: < www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 26 out. **2016**.
3. BRASIL, Anvisa. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Resolução n° 166, Diário Oficial da União, 24 de julho de 2017. Disponível em: < www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 26 ago. **2017**.
4. BRASIL. Farmacopéia Brasileira. 5.ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, **2010**.
5. Silva, G. A.; Da Silva, L. A.; Hilário, D. C.; Bueno, P. M. F.; REFACER. **2015**, *2*, 4.
6. Cezarino, P. Y. A. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, Brasil, **2010**.
7. Scheubel, E. Tese de doutorado em Ciências Farmacêuticas, University Clermont-Ferrand 1, França, **2010**.
8. Gehring, P. A. F.; Santos, O. M. M.; Pereira, G. R.; Araújo, M. B.; Bonfilio , R.; Química nova, **2011**, *3*, 34.
9. Gu, C.-H.; Rao, D.; Gandhi, R. B.; Hilden, J.; Raghavan, K.; Eur. J. J Pharm Sci., **2005**, *94*, 199.
10. Laporta, L. V.; Brum, T. F.; Pons Júnior , F. R. ; Santos, M. R.; Gonçalves, C. A.; Rev Ciênc Farm Básica Apl., **2013**, *33*, 373.
11. Leal, F. J.; Couto, R. C.; J Vasc Bras. **2015**, *14*, 224.
12. Malesuik, M. D.; Cardoso, S. G.; Bajerski, L.; Lanzanova, F. A.; *J AOAC,* **2006**, *89*, 359.
13. Marcolongo R.; Dissertação de mestrado Universidade de São Paulo, **2003**.
14. Matioli, G.; Valentini, S. R.; Sommer, W. A.; Acta Scientiarum Health Sci. **2004**, *16*, 357.
15. Oliveira, D. C.; Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, **2012**.
16. Ruwer, S. L.; Rev Bras Otorrinolaringol. **2015**, *71*, 298.
17. Silva, A. C. P.; Ciênc Saúde Coletiva. **2010**, *15*, 3371.
18. Silva, C. A*.;* Controle de Contaminação*.* **2006**, *85*, 30.
19. USP 38, The united states pharmacopeia. The National Formulary: NF-33, Rockville: The United States Pharmacopeial Convention, **2015**.

• ISSN 1806-0374 (impresso) • ISSN 1806-9827 (CD-ROM) • ISSN 2179-0302 (meio eletrônico)

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 3 *– Resultados de recuperação obtidos através da adição de SQR de CIN em três soluções com diferentes níveis de concentração (CQB, CQM e CQA).*

Amostra	Conc. teórica (μg mL^{-1}) ± DP (%)	Média de CIN Recuperada		DPR (%)
		(μg mL^{-1})	Exatidão (%) ± DP (%)	
CQB	3,333 ± 0,007	3,330	99,9 ± 0,008	3,396
CQM	6,666 ± 0,008	6,633	99,5 ± 0,008	1,904
CQA	9,999 ± 0,004	10,07	100,7 ± 0,004	0,715

Legenda: *Conc.: concentração; CQB: controle de qualidade baixo; CQM: controle de qualidade médio; CQA: controle de qualidade alto; DP: desvio padrão e DPR: desvio padrão relativo.*

Tabela 4 *– Resultados de repetibilidade e recuperação intermediárias obtidas por espectrofotométricas no UV de soluções contendo CIN referentes ao CQB, CQM e CQA.*

Soluções	Leitura	Precisão					
		Repetibilidade (μg mL^{-1})			Intermediária[1] (μg mL^{-}		
		CQB	CQM	CQA	CQB	CQM	CQA
1	1	3,33	6,77	9,92	3,35	6,66	9,92
	2	3,33	6,67	9,98	3,35	6,66	9,99
	3	3,33	6,71	9,79	3,35	6,66	9,96
2	1	3,33	6,55	10,03	3,29	6,54	9,96
	2	3,34	6,56	9,95	3,29	6,54	9,99
	3	3,33	6,58	9,97	3,29	6,54	9,99
3	1	3,33	6,66	10,02	3,38	6,61	10,12
	2	3,33	6,66	10,02	3,38	6,63	10,10
	3	3,33	6,66	10,02	3,37	6,69	10,10
Média		3,33	6,65	9,97	3,34	6,61	10,01
DP		0,00	0,07	0,07	0,04	0,06	0,07
DPR (%)		0,09	1,04	0,71	1,10	0,86	0,67

Legenda: *CQB: controle de qualidade baixo; CQM: controle de qualidade médio; CQA: controle de qualidade alto; DP: Desvio padrão; DPR: Desvio padrão relativo*.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 5. *Resultados referentes à robustez do método por espectrofotometria no UV.*

Variável	Condição nominal	Condição alterada	DPR (%)
Tempo de extração	10 min.	20 min.	0,6
Concentração de HCl	0,1 mol L^{-1}	0,09 mol L^{-1}	0,8
Λ	251 nm	250 nm	1,8
Desaeração	Com	Sem	0,7
Diferentes solventes	Tédia	Vetec	0,4
Ph	1,2	1,4	1,2
Estabilidade das soluções	Tempo 0	15 horas	1,5

Legenda: *HCL: Ácido clorídrico.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

DETERMINAÇÃO VOLTAMETRICA DE Cu EM COMBUSTIVEL USANDO ELETRODO QUIMICAMENTE MODIFICADO POR SAIS DE TETRAZOLIOS

VOLTAMETRIC DETERMINATION OF Cu IN FUEL USING CHEMICALLY MODIFIED ELECTRODE BY TETRAZOLES

MOREIRA, Lucy Rose de Mª O.[1*]; SILVA, Janiciara Botelho[2]; FURTADO, Jethânia Glasses Cutrim[3] , MARQUES; Aldaléa Lopes Brandes[3] , BEZERRA, Cícero Wellington Brito[4] , MARQUES, Edmar Pereira[4]

[1] Universidade Federal do Maranhão - UFMA, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal- REDE BIONORTE, Av. dos Portugueses, 1966, Bacanga - CEP 65080-805, São Luís – MA, Brasil, (Fone: +55 98 3272 8681)

[2] Instituto Federal do Piauí – IFPI , BR-402, Km 3, s/n - Baixa do Aragão, Parnaíba - PI, 64215-000, fone: (86) 3323-7466

[3] Universidade Federal do Maranhão – UFMA, Departamento de Tecnologia Química, Av. dos Portugueses, 1966, Bacanga - CEP 65080-805, São Luís – MA, Brasil
(Fone: +55 98 3272 8683; fax: +55 98 3272 8683)

[4] Universidade Federal do Maranhão – UFMA, Departamento de Química, Av. dos Portugueses, 1966, Bacanga - CEP 65080-805, São Luís – MA, Brasil, (Fone: +55 98 3272 9207)

** Autor correspondente*
e-mail: lucyrose@ig.com.br

Received 28 March 2018; received in revised form 06 December 2018; accepted 10 December 2018

RESUMO

Este artigo descreve um procedimento analítico para a determinação de cobre em amostras de combustível, usando o elétrodo de grafite modificado pirólise do plano basal (BPPGME) por sais de tetrazólio: 3-(4,5-dimetitiazol-2il)-2,5-difenil-2H-tetrazólio (MTT)Br] . A determinação de metais em combustível é um assunto de relevância ambiental por considerar que estes elementos podem ser liberados para a atmosfera ocasionando danos ao meio ambiente e a saúde. Amostras de combustíveis (etanol, biodiesel e gasolina) foram previamente digeridas em forno de microondas usando meios de ácido nítrico e peróxidos (biodiesel) e apenas ácido nítrico (álcool e gasolina). O íon metálico estudado reagiu na superfície do eletrodo quimicamente modificado para produzir alterações marcadas no voltammogramas correspondente. A fim de determinar a espécie de interesse, os melhores resultados foram, em pH 5,0 para cobre e pH 6,0 para outras espécies. A escala de concentração para o cobre era $2{,}0\text{x}10^{-6}$ a $1{,}25\ \text{X}10^{-5}$ mol L^{-1}. O limite de detecção em combustíveis de amostras (etanol, biodiesel ou gasolina), por ARV foi de $2{,}5\text{x}10^{-6}$ mol L^{-1}. O procedimento avaliado apresentou resultados satisfatórios do ponto de vista analítico e estatístico e, portanto, foi considerado adequado para a matriz analisada.

Palavras-chave: voltametria, íons metálicos, biocombustíveis.

ABSTRACT

This article describes an analytical procedure for the determination of copper in fuel samples using the modified graphite electrode basal pyrolysis (BPPGME) by tetrazolium salts: 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium (MTT) Br]. The determination of metals in fuel is an issue of environmental relevance because it believes that these elements can be released into the atmosphere causing damage to the environment and health. Fuel samples (ethanol, biodiesel and gasoline) were previously digested in a microwave oven using nitric acid and peroxides (biodiesel) and only nitric acid (alcohol and gasoline). The metal ion studied reacted on

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

the surface of the chemically modified electrode to produce marked changes in the corresponding voltammograms. In order to determine the species of interest the best results were at pH 5.0 for copper and pH 6.0 for other species. The concentration scale for copper was $2.0x10^{-6}$ at 1.25 X 10^{-5} mol L^{-1}. The limit of detection in fuels of samples (ethanol, biodiesel or gasoline), by ARV was $2.5x10^{-6}$ mol L^{-1}. The accuracy of the proposed technique was compared by providing similar results, ie the copper concentration in the samples analyzed by both techniques at a non-statistically different 95% certainty level.

Keywords: voltammetry, Metal ions, biofuels.

INTRODUÇÃO

Os primeiros sais de tetrazólios e formazans foram descobertos pouco antes do começo do Século XX (BAMBERGER, 1969). Alguns destes compostos foram estudados por Kuhn e Jerchel, desde 1941, devido as suas possíveis aplicações em pesquisas bioquímicas.

Os primeiros relatos sobre compostos derivados do tetrazólio ocorreram no período de 1939 a 1945 sobre aplicações biológicas. Logo foi observado que esses sais apresentam produtos de redução que possuíam coloração vermelho púrpura. Esses produtos de redução passaram a ser chamados de formazan (RUTENBERG, 1950).

Embora alguns sais derivados do tetrazólio tenham sido usados extensivamente em estudos biológicos nos últimos anos, os comportamentos eletroquímicos desta classe de compostos têm sido adequadamente discutidos na literatura, provavelmente pelo fato de depositarem-se na superfície do eletrodo quando reduzido em água, resultando em um pobre comportamento eletroquímico em solução aquosa. Além da importância em se determinar metais tóxicos em baixas concentrações, os metais pesados ocorrem no ambiente aquático sob diversas formas: em solução na forma iônica ou na forma de complexos solúveis orgânicos ou inorgânicos; formando ou ficando retidos às partículas coloidais minerais ou orgânicas; ficando retidos no sedimento; ou incorporados à biota (AGUIAR, 2002) a rapidez e abrangência destas informações são de extrema relevância para aplicação de políticas de saúde e ambientais, tem despertado grandes interesses nas pesquisas.

Esses compostos são facilmente identificados por técnicas analíticas, sendo que a forma oxidada é solúvel em etanol e em solventes aquosos, enquanto que a sua forma reduzida, fortemente colorida, é insolúvel em água. Todos os sais tetrazólio são obtidos dos seus respectivos sais formazan os quais são sintetizados por métodos clássicos (BAMBERGER, 1969). As informações sobre a síntese de formazan têm sido obtidas a partir de três fontes principais: estudos polarográficos, espectroscópicos e de ressonâncias spin (ERS), (JÀMBOR,1957,1960). Os estudos polalográficos contribuiram de forma importante para elucidação da formação dos intermediários a partir da reação com o sal de tetrazólio. Um dos grandes colaboradores para este estudo, (JAMBOR1960 apud MARQUES,1995), na década de 60, relatou brevemente que utilizando-se a polarografia a redução dos sais de tetrazólio em meio ácido leva a formação de formazan de forma lenta, ocorrendo antes a formação de vários intermediários até a obtenção do produto final formazan. (LACAN,1974).

A redução dos sais derivados do tetrazólio tem sido estabelecida por diversos autores segundo a reação mostrada a seguir na figura 1. O tetrazólio possui uma estrutura cíclica na qual o R representa diversos radicais que podem se ligar a estrutura.

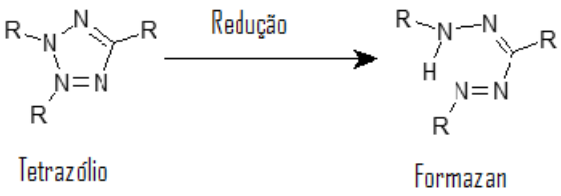


Figura 1. Processo de redução da espécie tetrazólio a formazan onde R representa diversos radicais que podem se ligar a estrutura tetrazólio.

Aspectos Gerais Sobre o Brometo de 3-(4,5-dimetitiazol-2il)-2,5-difenil-2H Tetrazólio-(MTT)Br.

O [MTT]Br pertence á família de sais tetrazólio tais como o 2,3,5- trifeniltetrazólio e Azul Nitro-Tetrazólio Cloreto cujo mecanismo de redução tem sido muito estudado em solução (MARQUES, 1988). Nos estudos eletroquímicos têm sido observadas duas etapas de redução

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

sucessivas, sendo que na primeira há a formação de um radical intermediário, confirmado por estudos de ressonância eletrônica de spin, e na segunda forma-se uma espécie formazan na qual o anel do tetrazólio é aberto (MARQUES, 1988).

O MTT (3-(4,5- dimetitiazol-2il)-2,5-difenil-2H tetrazólio brometo) é um composto de cor amarelo, de massa molecular 414,32 g mol^{-1} que na forma reduzida (FORMAZAN) possui uma coloração roxa, daí o seu grande emprego em estudos envolvendo células vivas (MOSMANN,1983). A Figura 2 mostra a estrutura do composto MTT sendo convertida, na corresponde forma reduzida formazan. A absorbância desta solução colorida pode ser quantificada pela medição em certo comprimento de onda (geralmente entre 500 e 600 nm) em um espectrofotômetro.

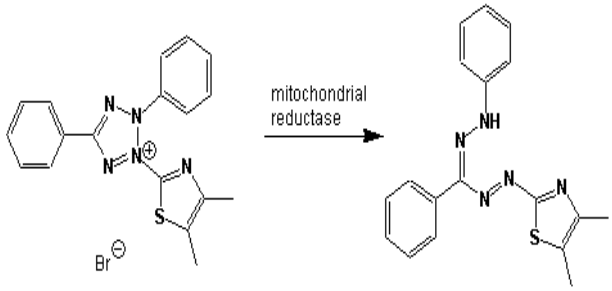


Figura 2. Fórmula estrutural do composto MTT

O cobre é um dos principais metais presentes no corpo humano. Encontra se distribuído praticamente em todo o organismo, mas em diferentes concentrações, o que indica seu papel funcional. A toxicidade do cobre varia em relação a aspectos do ambiente de exposição, da sua forma química e em relação ao organismo e espécies expostas. O cobre, quando em altas quantidades passa a ser tóxico, tanto ao meio ambiente, quanto aos seres vivos. Quando permanece no solo, afeta fortemente os minerais e matéria orgânica, e por não se fragmentar no ambiente, pode se acumular em plantas e animais. (OLIVEIRA, 2018).

O excesso de cobre solúvel no organismo humano (hipercupremia) pode ser tóxico devido à afinidade do cobre com grupos SH (tióis) de muitas proteínas e enzimas, causando doenças como epilepsia, melanomas, artrite, reumatóide e doenças psiquiátricas (AZEVEDO, 2003).

Este trabalho tem como objetivo avaliar o teor dos íons de cobre em amostras de álcool, biodiesel e gasolina. Através de procedimentos eletroanalíticos após pré-tratamento ácido das amostras, uma vez que há necessidade de desenvolvimento de novos métodos de análise para matrizes combustíveis.

MATERIAIS E MÉTODOS

Reagentes

Ácido nítrico HNO_3 (Suprapuro – MERCK), Ácido Clorídrico (HCl) - MERCK, Ácido Acético (CH_3COOH) – MERCK, Ácido Orto-Fosfórico (H_3PO_4) – MERCK, Ácido Bórico (H_3BO_3) – MERCK, Perclorado de Sódio ($NaClO_4 .H_2O$) MERCK, Hidróxido de Sódio (NaOH) – ALDRICH, Etanol (CH_3CH_2OH) – MERCK, Ferrocianeto de Potássio ($K_4[Fe(CN)]_6.3H_2O$) – MERCK, Gás Nitrogênio supra-seco da WHITE MARTINS, Brometo de 3-(4,5-dimetitiazol-2il)-2,5-difenil-2H tetrazólio- (MTT)Br – MERCK, Sulfato de Cobre (II) - ($CuSO_4. 5H_2O$).- MERCK, Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2) – CRQ

Equipamentos

Nos experimentos Voltamétricos empregou-se um potenciostato BAS automático modelo CV-50W, acoplado a um microcomputador para registro e aquisição das medidas. Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) modelo Vista-pró, simultâneo e com configuração axial (Varian 720-ES).

Parâmetro Analise por voltametria de Redissolução

Para as análises de varredura anódica segui-se os parâmetros descritos na Tabela 1, após o eletrodo ser limpo este era colocado em uma solução de tampão BR no pH desejado, era deaerado por 10 minutos e registrava-se o voltamograma do eletrodo limpo, em seguida era colocado em uma solução de tetrazólio de interesse (MTT) $1,0x10^{-3}$ $mol.L^{-1}$

Coleta e preparo das amostras

As amostras de álcool e gasolina foram coletadas em postos de venda de combustíveis do município de São Luís – MA, em frasco de polietileno com capacidade de 5L estéreis (Figura 3). A amostra de Biodiesel de sebo bovino (B100) foi fornecida pelo Laboratório de Análises e Pesquisa em Química Analítica de Petróleo, Gás Natural e Bicombustíveis

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

(LAPQAP) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA). Esta amostra é (foi) originada do Programa Interlaboratorial de Biodiesel.



Figura 3. Frasco com gasolina coletado no posto de combustível em São Luis- MA.
Fonte: O próprio autor

Preparo das soluções *Procedimento Experimental para a modificação do eletrodo*

Para a modificação do eletrodo grafite pirolítico recém-polido, o mesmo era colocado em uma célula contendo eletrólito suporte (tampão BR) com o pH selecionado previamente para o registro do voltamograma do eletrodo limpo.

A seguir em uma célula eletroquímica adicionou-se 10 mL do tampão BR, sendo o pH da solução ajustado para 6,0 com adições de NaOH (1 mol.L^{-1}). A solução foi primeiramente deaerada com nitrogênio por 10 minutos. Em seguida registravam-se os voltamogramas cíclicos. O eletrodo era imerso em uma solução de tetrazólio de interesse (MTT) 1,0x10^{-3} mol.L^{-1}, rapidamente lavado com água purificada e transferido para a mesma célula com tampão Britton Robinson e registrava-se o voltamograma com o tetrazólio.

Digestão das Amostras (Álcool, Biodiesel e Gasolina)

Para a digestão das amostras de álcool, biodiesel e gasolina em sistema fechado com micro-ondas como fonte de energia foi utilizado um sistema convencional de digestão com cavidade MULTIWAVE 3000 (Anton Paar) equipado de um rotor com 4 fracos de quartzo. Neste trabalho utilizou-se o programa de aquecimento proposto pelo fabricante do equipamento.

Para a decomposição da amostra de etanol, colocou-se no frasco de quartzo 500 μL da amostra etanol com 5 mL de ácido nítrico (supra-puro) e 2 mL de água deionizada em seguida utilizava-se os parâmetros da tabela 2. Para o biodiesel, colocou-se no frasco de quartzo 65,6 μL da amostra de biodiesel com 4 mL de água deionizada, 3 mL acido nítrico (supra-puro), 3 mL de peróxido de hidrogênio 0,5 mL de acido clorídrico em seguida utilizava-se os parâmetros da tabela 2. Para a gasolina, colocou-se no frasco de quartzo 200 μL da amostra de gasolina e 4 mL de ácido nítrico (supra-puro) e 2 mL de água deionizada em seguida utilizaram-se os parâmetros da tabela 2.

Tabela 2. Parâmetros para digestão das amostras de combustíveis (álcool, biodiesel, gasolina).

Amostra	Potencia (W)	Rampa (W/min)	Tempo (min)
Álcool	400	15	20
Biodiesel	500	15	20
Gasolina	700	15	20
Limpeza	700	5	15

Fonte: próprio Autor, 2018.

Após a digestão das amostras à solução resultante era adicionada solução de NaOH (hidróxido de sódio) até atingir pH=6,0 em seguida transferiu-se 2 mL desta solução para uma célula eletroquímica contendo 8 mL de tampão BR pH 6,0 totalizando em volume de 10 mL.

Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado – (ICP OES)

Utilizou-se um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado modelo Vista-pró, simultâneo e com configuração axial (Varian 720-ES). As intensidades de emissão foram medidas nas linhas mais sensíveis e livres de interferência espectral, sendo em 324 a 754 nm para Cu (II).

A alta temperatura e a atmosfera inerte do argônio no plasma minimizam as

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

interferências não espectrais, melhorando a sensibilidade, precisão e a exatidão da técnica. A grande vantagem da ICP OES é a possibilidade de análises multielementares para uma ampla faixa de concentração com limites de detecção geralmente na ordem de µg L^{-1}. Entretanto, a introdução das amostras é realizada, principalmente, sob a forma líquida e como soluções aquosas (CHAVES, 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os estudos da adsorção da espécie de MTT na superfície do EGP em função do pH do meio, apresentado na Figura 4, indica dependência do sistema em função da concentração do meio, onde se observa que à medida que o pH aumenta há uma diminuição da variação do potencial entre os dois picos anódicos e os catódicos, isto é, aumenta o caráter de reversibilidade (MARQUES,1988).

.

Em pH=2,0 os picos (I/II) encontram-se sobrepostos, e à medida que aumenta-se o pH para 4,0 observa-se o desdobramento destes picos, registrados em -0,19 e -0,25 volts. Este comportamento se acentua à medida que o pH aumenta, e nos pHs mais básicos (5 e 6) temos os 2 picos catódicos e 2 anódicos melhor definidos, por exemplo, em pH 6,0, picos I e II em -0,060 e -0,320 e I' e II" em +0,280 e -0,270. Até que em pH= 12,0 esta separação entre os pares (I/I' e II/II') torna-se mais evidente, ou seja, assumindo um caráter reversível. Conforme visto, em pH 12 os picos catódicos I e II estão nos potenciais em -0,180 e -0,750 V e processos anódicos I' e II'' em -0,150; -0,720 V respectivamente.

Com base nos voltamogramas da Figura 4 podemos dizer que à medida que o pH aumenta ocorre uma maior separação entre os processos anódicos e catódicos concomitantemente com o aumento da reversibilidade. Isto pode ser evidenciado no voltamograma em pH 12, no qual os pares I e I' ; II e II" estão sobrepostos, aproximadamente nos mesmos potenciais (I e I' em aproximadamente -0,150V e II e II" em aproximadamente -0,750V)

Reação da espécie metálica Cu^{2+} com MTT na superfície do EQM

A complexação do íon Cu (II) pelo composto MTT na superfície do eletrodo, foi realizada em circuito aberto, ou seja, o eletrodo previamente modificado por adsorção espontânea do composto MTT foi exposto por alguns segundos em uma solução de Cu (II), sem nenhuma excitação eletroquímica.

O eletrodo usado para registrar o voltamograma, foi, retirado da célula eletroquímica, lavada e imerso em uma solução de sulfato de cobre (II) $1,0x10^{-2}$ $mol.L^{-1}$ por alguns segundo, então e transferido de volta para a célula eletroquímica contendo eletrólito suporte tampão Britton-Robinson no pH desejado registrado o voltamograma.

A reação do Cobre (II) com o MTT na superfície do eletrodo modificado está evidenciado na Figura 5, onde temos o voltamograma característico do MTT em tampão BR (linha cheia) e após imersão deste em solução de cobre (linha preta pontilhada). Conforme visto nessa Figura ocorre o desaparecimento dos picos anódicos e catódicos do MTT com o concomitante aparecimento de dois novos picos um anódico em (+0,380V e -0,167V) e o catódico em (-0,21V e -0,20V).

Neste caso, a grande alteração no voltamograma característico do processo redox atribuído ao MTT, com o surgimento de novos picos, como mencionado cima, pode ser atribuída ao complexo MTT-Cu formado na superfície do eletrodo. Com os estudos de otimização do método observou-se que o complexo tem melhor evidencia entre pH= 5,0 e 6,0.

DETERMINAÇÃO DE COBRE POR VOLTAMETRIA DE REDISSOLUÇÃO EMPREGANDO O EQM.

Tendo em vista que os eletrodos quimicamente modificados pelas espécies tetrazólios estudadas por voltametria cíclica apresentaram sensibilidade eletroanalítica para o traço cobre, buscou-se uma técnica mais sensível para detecção dos íons metálico para o uso destes eletrodos como sensores analíticos na determinação de traço de metais.

Os voltamograma disposto na figura 6 foram obtidos com eletrodo quimicamente modificado pelo MTT em tampão BR pH 6,0 para concentrações Cu (II) na faixa de $1,0\ x10^{-9}$ a $1,0x10^{-8}$ $mol.L^{-1}$. O voltamograma (a) corresponde ao EQM modificado por MTT e os

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

demais as correspondentes varreduras do EQM em solução contendo concentrações diferentes de Cu (II). Analisando o conjunto de voltamograma da Figura 6, verifica-se uma diminuição no pico do tetrazólio, em torno de 300 mV, o qual é dependente da concentração do cobre.

Os dados dos voltamogramas da figura abaixo de corrente e concentração–de cobre foram utilizados para construir a curva analítica visto na Figura 6 (B). A faixa de concentração empregada foi de $2{,}0x10^{-9}$ a $1{,}0x10^{-9}$ $mol.L^{-1}$ a qual possui uma boa linearidade com coeficiente de correlação igual a 0,99021.

APLICAÇÃO DO ELETRODO EM AMOSTRA DE COMBUSTIVEL

Após o estudo da viabilidade da utilização do Eletrodo Quimicamente Modificado por Espécies Tetrazólio para a determinação de íons metálicos em meio aquoso, foram feitos testes voltamétricos com vistas a utilização destes EQM´s em amostras de combustíveis (álcool, biodiesel e gasolina).

Tendo em vista a complexidade destas matrizes combustíveis, optou-se por um pré-tratamento, o qual consistiu na digestão ácida da matriz conforme descrito na parte experimental.

EQM (MTT-Cu) em amostra de Álcool

Para a amostra de álcool digerida seguiu-se o mesmo procedimento descrito anteriormente. Na Figura 7 estão dispostos os voltamogramas obtidos com o eletrodo quimicamente modificado com o MTT em álcool digerido com as respectivas adições de cobre.

Na Figura 7 (A) o segundo voltamograma corresponde ao registro da varredura do EGP na célula contendo 10 mL de álcool digerido. Os demais voltamogramas foram obtidos com as respectivas adições de cobre ($2{,}5x10^{-6}$, $5{,}0x10^{-6}$, $7{,}5x10^{-6}$, $1{,}0x10^{-5}$, $1{,}25x10^{-5}$, $1{,}50x10^{-5}$ mol/L^{-1}).

No gráfico, observa-se um decaimento do pico em função da corrente versus concentração.

A Figura 7 (B) apresenta o tratamento matemático das adições de cobre na amostra digerida. Este foi obtido integrando a área do correspondente voltamograma, ou seja, integrando corrente versus potencial, e este resultado (a área) foi plotada em função da variação da concentração de cobre. O gráfico de área versus concentração do MTT-Cu mostrou uma boa linearidade (R=0,99562) na faixa estudada. A partir da construção de curvas de calibração pode-se verificar um limite de detecção de $2{,}5x10^{-6}$ mol L^{-1}. Com teor de cobre de $2{,}45x10^{-6}$ $mol.L^{-1}$ na amostra analisada.

EQM (MTT-Cu) em amostra de Biodiesel

De forma semelhante, a mostra de biodiesel foi submetida a uma digestão ácida e em seguida aplicou-se o mesmo procedimento para a quantificação de cobre. Na Figura 8 (A), o voltamograma (A) corresponde ao registro da varredura do EGP na célula contendo 10 mL de biodiesel digerido. Os demais voltamogramas foram obtidos com as respectivas adições de cobre ($2{,}5x10^{-6}$, $5{,}0x10^{-6}$, $7{,}5x10^{-6}$, $1{,}0x10^{-5}$, $1{,}25x10^{-5}$, $1{,}50x10^{-5}$ mol/L^{-1}).

A Figura 8 (B) apresenta o tratamento matemático das adições de cobre registradas. Este foi obtido integrando a área do correspondente voltamograma, ou seja, integrando corrente versus potencial, e este resultado (a área) foi plotado em função da variação da concentração de cobre. O gráfico de área versus concentração do MTT-Cu mostrou uma boa linearidade (R=0,99171) na faixa estudada. A partir da construção de curvas de calibração pode-se verificar um limite de detecção de $2{,}5x10^{-6}$ mol L^{-1}. Com teor de cobre de $1{,}38x10^{-6}$ $mol.L^{-1}$ na amostra analisada.

EQM (MTT-Cu) em amostra de Gasolina

Para as amostra de gasolina digerida utilizou-se o procedimento anterior já citado, nas mesmas condições de pH=6,0 com EGP modificado pela espécie de tetrazólio de MTT $1x10^{-3}$ $mol.L^{-1}$. Em seguida adiciona-se alíquotas de cobre em uma célula contendo 10 mL do eletrólito suporte. Adição de $2{,}5x10^{-6}$, $5{,}0x10^{-6}$, $7{,}5x10^{-6}$, $1{,}0x10^{-5}$, $1{,}25x10^{-5}$, $1{,}50x10^{-5}$ $mol.L^{-1}$). Os voltamogramas obtidos estão mostrados na figura 9. Nestes, observa-se que o pico correspondente ao tetrazólio diminui à medida que aumenta a concentração de cobre.

A Figura 9 (B) apresenta o tratamento matemático das adições de cobre registradas. Este foi obtido integrando a área do correspondente voltamograma, ou seja,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

integrando corrente versus potencial, e este resultado (a área) foi plotado em função da variação da concentração de cobre. O gráfico de área versus concentração do MTT-Cu mostrou uma boa linearidade (R=0,9857) na faixa estudada. A partir da construção de curvas de calibração pode-se verificar um limite de detecção de $2{,}5x10^{-6}$ mol L^{-1}. Com teor de cobre de $2{,}62x10^{-6}$ mol.L^{-1} na amostra analisada.

DETERMINAÇÃO DE COBRE EM ÁLCOOL, BIODIESEL E GASOLINA POR ESPECTROMETRIA DE MASSA COM PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO ICP OES.

No sentido de validar uma possível metodologia analítica para a determinação de íons metálicos em amostra de combustíveis (álcool, gasolina e biodiesel) buscou-se analisar estes metais por outra técnica analítica; já que não foi possível a utilização de amostras certificadas destas matrizes.

O limite de quantificação é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinado com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas. A tabela 3 traz dados de inclinação da reta, a linearidade e o RSD (%) do íon metálico na curva de calibração.

Tabela 3. Parâmetros de mérito para a determinação de cobre em álcool, biodiesel e gasolina por ICP OES, calibração com padrões.

Isótopo	Inclinação L.mg^{-1}	R	RSD (n=3) %	Calibração L.mg^{-1}
Cu	3283,06	0,9997	** (no texto)	1 - 10

** A precisão foi calculada como sendo o desvio padrão relativo (RSD %) para n=3. Sendo encontrado o valor de 10,7 % para amostra de álcool, 4% para biodiesel e 4,6% para a gasolina.

Outra expressão da precisão é através da estimativa do desvio padrão relativo (RSD), também conhecido como coeficiente de variação (CV) em termos percentuais.

$$RSD\ ou\ CV = \frac{S}{\overline{X}} . 100$$ (Equação 1)

odos que quantificam co ntidades requerem um RSD de 1 a 2%. Em métodos de análise de traços ou impurezas, são aceitos RSD de até 25%, dependendo da complexidade da amostra. Uma maneira simples de melhorar a precisão é aumentar o número de replicatas (MENDHAM *et al.,* 2000).

A precisão em validação de métodos é considerada em três níveis diferentes: repetitividade; precisão intermediária; reprodutibilidade (INMETRO, 2003).

Aplicação analítica nas amostras de combustíveis

As determinações de cobre nas amostras de combustíveis foram feitas em triplicata, os resultados obtidos foram tratados em programa de gráfico (Origin) para construção do respectivo gráfico, obtendo-se a média e o erro relativo das amostras encontradas. A Figura 10 representa os teores de álcool, biodiesel e gasolina encontrados.

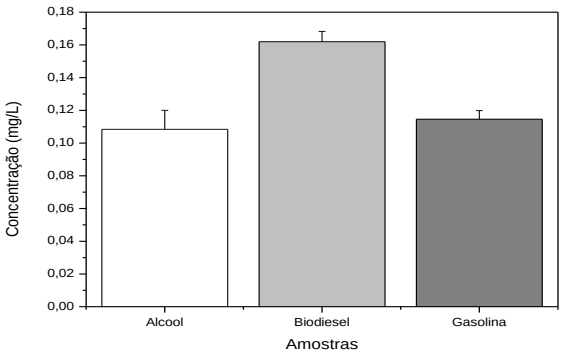


Figura 10. Determinação de cobre em amostras de combustíveis (álcool, biodiesel e gasolina) por espectrometria (ICP-OES.)

Os resultados demonstram que as amostra de álcool apresentaram concentrações baixas próximas de 0,11 mg/L de cobre e na gasolina teve-se o valor próximo de 0,12 mg/L, enquanto no biodiesel já apresenta o valor de 0,17 mg/L.

Comparação dos métodos eletroquímico e espectrométrico.

A tabela 4 mostra as médias ($\overline{X}_1$ e $\overline{X}_2$) do teor de cobre determinados pelas duas técnicas e seus respectivos desvios padrões, além da comparação entre o t_{tab} e o t_{cal}.

Tabela 4. Comparação estatística entre as técnicas VRA e ICP-OES para determinação de Cu(II).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Amostras	VRA		ICP-OES		t_{cal}	t_{tab}
	$\bar{X}_1$ (mg/L)	s_1	$\bar{X}_2$ (mg/L)	s_2		
Álcool	0,1039	0,0004	0,1084	0,0135	0,580	2,776
Biodiesel	0,1340	0,0052	0,1072	0,0083	0,345	2,776
Gasolina	0,1546	0,0063	0,1146	0,0065	0,447	2,776

Tendo em vista um tratamento estatístico para estabelecermos se existe diferença significativa entre a metodologia empregada VRA e a metodologia usando ICP-OES, aplicamos o teste t que está resumido na Tabela 4. Para as 3 amostras utilizadas, os valores de $t_{CALCULADO}$ foram menores do que o valores de $t_{TABELADO}$. Isto indica que não existe diferença significativa entre as duas metodologias.

CONCLUSÕES

Através da comparação dos resultados com a técnica de Espectrofotometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES), pode-se observar que houve uma boa concordância entre os valores encontrados;

Os resultados obtidos vêm confirmar a validade do método proposto dentro das limitações experimentais e mostrar a importância da implementação dos métodos estatísticos como ferramenta complementar da atividade de pesquisa analítica;

A técnica ICP OES apresentou uma boa concordância com a VRA na análise de cobre uma vez que esse metal estava na escala de ppm. Essa concordância foi avaliada com o teste t de Student e apresentou t_{cal} menor que t_{tab} igual a 2,776 em todas as amostras;

Comparando os procedimentos empregados nas analises com VRA, sejam validos, essa técnica apresentou eficiência na determinação de Cu(II), pode-se dizer que VRA é mais acessível que ICP OES.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Maranhão, e ao laboratório de Pesquisa Analítica (LPQA) e a Capes pelas bolsas concedidas.

REFERÊNCIAS

1. A.; *World J. Microbiol. Biotechnol.* **1998**, *14*, 543.
2. AGUIAR, M. R. . P. ; NOVAES, A. C . Remoção de metais pesados de efluentes industriais por aluminossilicatos. Quím. Nova vol.25 no.6b são paulo nov./dec. **2002**.
3. ALLOWAY, B. J. Heavy metals in soils. New York: John Wiley, **1990.** 339p.
4. ANP – Agência Nacional do Petróleo, Portaria Nº 255, de 15 de Setembro de **2003**. Especificação preliminar do Biodiesel B100.
5. ANP – Agência Nacional do Petróleo, Resolução 07/2008 (Art. 2º). Especificação do Biodiesel. 19.3.2008 - DOU 20.3.2008.
6. ANP – Agência Nacional do Petróleo, Resolução Nº 42/2009 (Art. 2º). Especificação do Biodiesel. 16.12.2009.
7. AZEVEDO, S.M. et al. Levantamento da contaminação por cobre nas aguardentes de cana-de-açúcar produzidas em Minas Gerais**.** Ciência e Agrotecnologia, v. 27, n. 3, p. 618-624, **2003**.
8. BAMBERGER, E and Wheelwrigt, E. (1969). 25 3201.
9. BENTO, F R. Utilização de Técnicas Eletroquímicas para a determinação de Cu,Cr e As em Madeira de Eucalipto Preservada com Produto Hidrossolúveis. Dissertação de Mestrado - UFPR, Curitiba – Paraná, 135p**, 2004**.
10. CHAVES, E. S. Determinação de elementos traço em diesel e biodiesel por espectrometria de emissão atômica em chama e por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado com introdução da amostra por vaporização eletrotérmica. . Programa de Pós-graduação em Química Analítica, UFSC, **2008**. Dissertação de Mestrado, 82p.
11. CLEMENTE, J. C. Estudo da Adsorção do Nitro Blue Tetrazolium [NBT] Na superfície do eletrodo de grafite pirolítico para fins analíticos. Dissertação de Mestrado – UFMA, São Luis - MA, 76p, **2001**.

• ISSN 1806-0374 (impresso) • ISSN 1806-9827 (CD-ROM) • ISSN 2179-0302 (meio eletrônico)

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

12. CLEMENTE, J. C., Estudo Eletroquímico e Potencialidade Analíticas do Cloreto de 2,3,5-trifenil-2H-Tetrazólio (TTC). Monografia de Conclusão de Curso de Química Industrial. UFMA, **1998**,89p.

13. FREIRE, A S. Oxidação Eletrocatalitica de Etanol sobre Eletrodo de Carbono Grafite Prolitico Modificado com Niquel (II)-1-(2-Pyridylazo)-2-Naphthol em meio Alcalino. Monografia apresentada ao curso de Química Industrial da UFMA, **2008**. São Luis – MA.

14. FURTADO, J G C. Estudo de Impactos Ambientais Causadas por Metais Pesados em Água do Mar na Baia de São Marcos Correlações e Níveis Background. Dissertação de Mestrado – UFPB, João Pessoa- Paraiba, 59p, **2007**.

15. GIACOMELLI, M.B.O; M. C. Lima, L. F. Dias, B. Welz, A. J. Curtius, *Fractionation of Cd and Pb in BCR No. 601 sediment reference material following the BCR protocol for sediment extraction and determination by electrothermal atomic absorption spectrometry using permanent modifiers,* J. Anal. At. Spectrom., **2002**, 17, 1339-1343.

16. HARRIS, D. Análise Química Quantitativa. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC, **2001**.

17. JÀMBOR, B., "Tetrazolium Salze in der Biologie" G. Ficher. (**1960**).

18. JÁMBOR, Problems Involved in the polarografia of triphenil Tetrazolium Chloride. J. Chem. Soc., 1604-1609, (**1957**).

19. L. Yu, S. R. Koirtyohann, M. L. Ruppel, A. K. Skipor, *Simultaneous determination of aluminium, titanium and vanadium in serum by electrothermal vaporization-inductively plasma mass spectroscopy.* J. Anal. Atom. Spectrom., **1997**, 12, 69-74.

20. LACAN, M. Tabakovic, I.Z. , Eltrochemical Systeses of Heterocyclic compounds – I: Intramolecular Eletrochemical Cyclizaion of Formazans to tetrazolium salts. Tetrahechon, [Belgrade],30, 2911-2917, (**1974**).

21. LARINI, L. Toxicologia*.* São Paulo: Manole, **1987**. 315p.

22. LEPERA, J.S. Determinação de Chumbo, Cobre, Zinco e Ferro no cabelo por espectrofotometria de absorção atômica. Araraquara, **1989**. 105p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas/ Análises Toxicológicas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista.

23. LOPES, Ilmar Alves. A voltametria Cíclica e sua aplicação na Química Analítica. Monografia apresentada ao curso de Química Industrial da UFMA, **1995**, São Luis –MA.

24. MARQUES, E P. Estudo Eletroquimico e Potencialidades Analiticas de Sais Derivados do Tetrazólio: Brometo de 3-(4,5- dimetiltiazol-2il)-2,5-difenil-2H-Tetrazólio (MTTBr) e o Cloreto de 2,3,5-Trifenil-2H-Tetrazólio (TTCCL). Tese apresentada para professor titular da UFMA. São Luis – Ma, **1988**, p59.

25. MARQUES, E P; Zhang, J.; H., Tse; Metcalf, R; Pietro, W.J. Surface Electrochemistry of-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide [MTT]Br) adsorbed on a graphite electrode. J. of Electroanal. Chem., 395, 133-138, **1995**.

26. MATTOS, I. L.; Gorton, L.; *Quim. Nova* **2001**, *24*, 200.

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

28. MOORE, J.W., RAMAMOORTHY, S. Heavy metals in natural waters*.* New York: Springer-Verlag,**1984**. 328p.

29. NRIAGU, J.O. A silent epidemic of environmental metal poisoning? Environ. Pollution, v.50, p.139-61, **1988**.

30. OLIVEIRA, S. C. et al. Avaliação toxicológica dos efeitos do cobre na espécie carassius auratus. R. gest. sust. ambient., Florianópolis, v. 7, n. 2, p.260-275, abr./jun. **2018**.

31. PACHECO. Wagner Felippe. Desenvolvimento e comparação de métodos voltamétricos para a determinação de ciclofenil e primaquinaem medicamentos e em urina. Dissertação de Mestrado PUC –RJ- Rio de Janeiro, 106p, **2004**.

32. PEREIRA, A C.. Quím. Nova vol.25,.nº.6 São Paulo Nov./ dec. **2002**.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

33. PEREIRA, E.V.S. Procedimento Voltamétrico Para Determinação Simultânea De Metais Em Biodiesel, Por Voltametria de Redissolução Anódica Usando Eletrodo De Filme De Mercúrio Em Meio Alcoólico Falar completar. Dissertação de Mestrado – UFMA, São Luis-Maranhão, 72p, **2010**

34. RUTENBERG, A.M., Gofstein, R. Seligman, A. M.: Preparation of new tetrazolium salts which yields a blue pigment on reduction and its use in the demonstration of enzymes in normal, **1950**

35. SILVA, J B. Potencialidades e Aplicação Analítica do Brometo de 3-(4,5-dimetitiazol-2IL)-2,5-difenil-2H Tetrazólio na Detecção de Ferro(II) e Cobre(II) em meio aquoso. Monografia apresentada ao curso de Química Industrial da UFMA, **2001**. São Luis – MA.

36. SILVA, L. M. S. Avaliação de Procedimentos Analíticos com Vistas a Determinação Eletroanalítica de Metais em Gasolina. Dissertação de Mestrado, UFMA, São Luis, MA, 95p.,**2004**.

37. SKOOG, DOUGLAS A., WEST, DONALD M.; HOLLER, F. JAMES, Fundamentos de Química Analítica. Tradução [Marco Grassi; revisão técnica Célio Pasquini] 8ª Edição – São Paulo, editora Cengage Learning, p 657, **2008**.

38. SUAREZ, P A Z, MENEGHETTI, S P M 70°. Aniversario do biodiesel em 2007. Evolução historia e situação atual no Brasil. Quím. Nova, São Paulo, v 30, n 8, 2007. Disponível em: http://quimicanova.sbq.org.br/qn/qnol/2007/vol30n8/46-AG07046.pdf. Acessado em 18 de agosto de **2009**.

39. T. Kántor, S. Maestre, M.T.C. de Loos-Vollebregt, Studies on transport phenomena in electrothermal vaporization sample introduction applied to inductively coupled plasma for optical emission and mass spectrometry, Spectrochim. Acta Part B, **2005**, 60, 1323-1333.

40. UDOMSOPAGIT, S.; Suphantharika, M.; Kunnecke, W.; Bilitewski, U.; Bhumiratana, A.; *World J. Microbiol. Biotechnol.* **1998**, *14*, 543.

41. WILKINS, E.; Atanasov, P.; *Med. Eng. Phys.* **1996**, *18*, 273.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 1. Parâmetros experimentais de VRA usando eletrodo de grafite pirolítico utilizado para varredura anódica em diferentes amostras de pH (Amostras de Álcool, Biodiesel e Gasolina).

Parâmetros do CV - 50 W	Especificação do Valor
Direção da varredura	Anódico (positivo)
Tempo de pré-concentração	30 s
Tempo de repouso	15 s
Velocidade de varredura	10 mV/s
Amplitude de pulso	100 mV
Sensibilidade	10 µa/V

Fonte: Próprio autor, 2018.

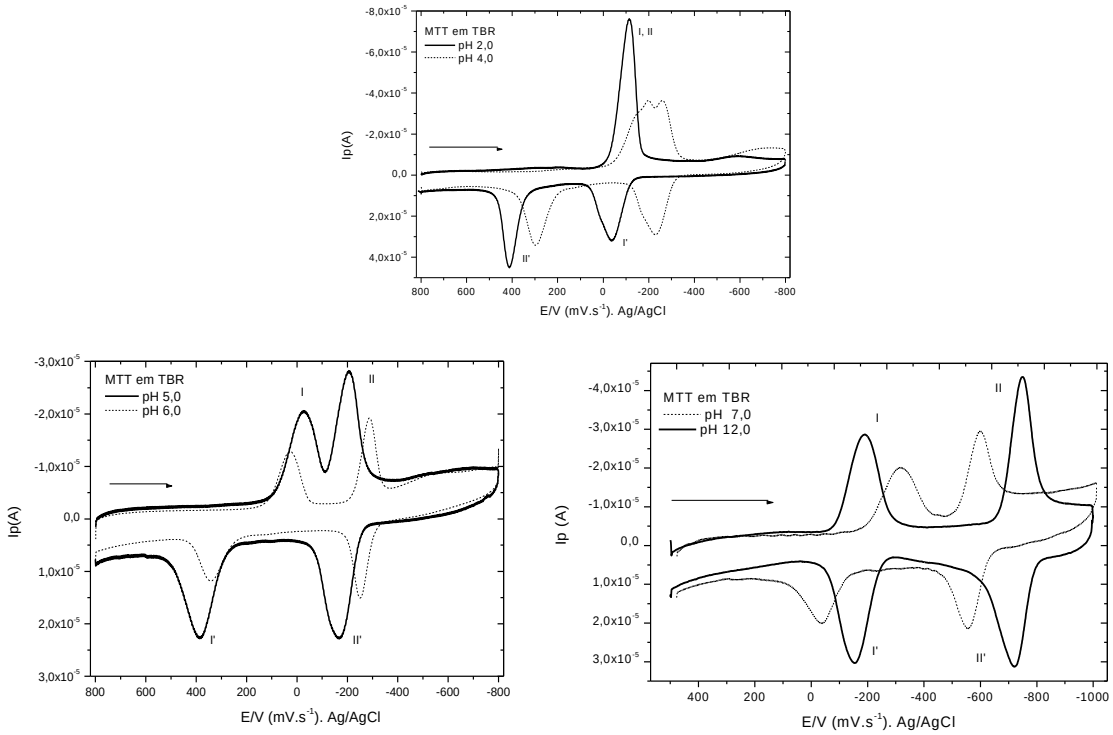


Figura 4. Registros voltamétricos para o eletrodo de grafite pirolítico quimicamente modificado pelo MTT em diversos valores de pH (pH= 2,4,5,6,7 e 12) v=100 mV.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

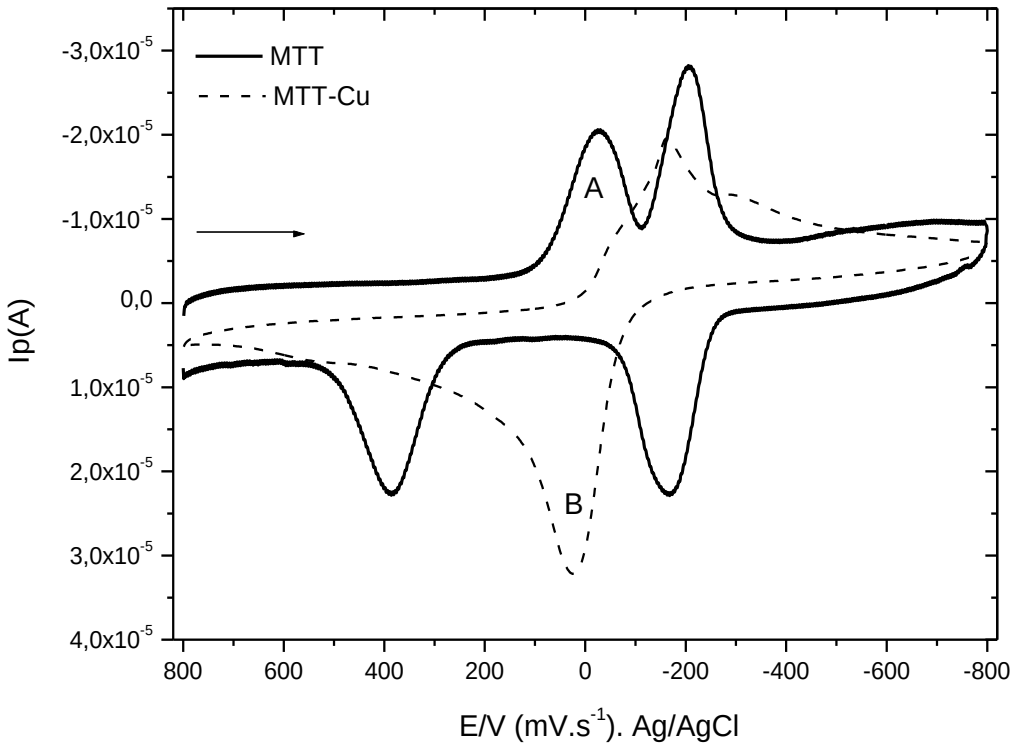


Figura 5. Resposta voltamétrica do EQM pela espécie MTT. (A) somente o EQM em tampão BR pH=5,0. (B) idem após imersão em solução contendo Cu(II). ([MTT= $1,0x10^{-3}$ Mol L^{-1}, Cu(II)= $1,0x10^{-2}$ $mol.L^{-1}$; velocidade de varredura= 100 $mV.s^{-1}$].

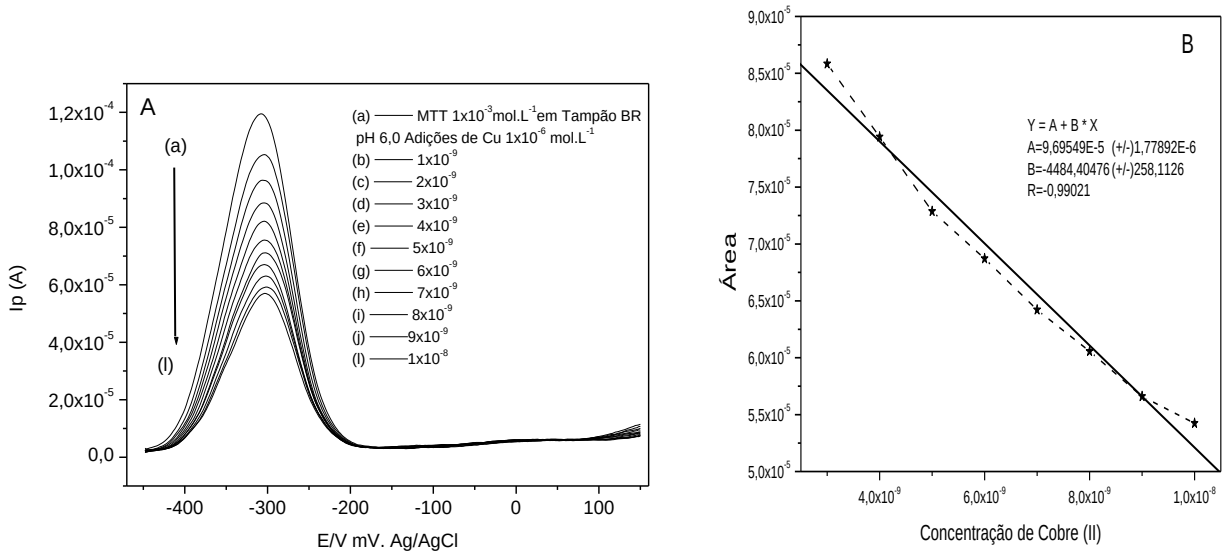


Figura 6. (A) Respostas voltamétricas do EQM pelo MTT em tampão BR pH=6,0 (VRA) (a) [C_{MTT}=$1x10^{-3}$ $mol.L^{-1}$]; (b - i) mesma condição de (A) após adições de cobre)$1,0x10^{-9}$, (c) $2,0x10^{-9}$, (d) $3,0x10^{-9}$, (e) $4,0x10^{-9}$, (f) $5,0x10^{-9}$, (g) $6,0x10^{-9}$, (h)$7,0x10^{-9}$, (i) $8,0x10^{-9}$, (j) $9,0x10^{-9}$, (l) $1,0x10^{-8}$ mol/L^{-1} velocidade de varredura de v= 100 $mV.s^{-1}$, Amplitude =100 $mV.s^{-1}$. (B) gráfico da área do pico em função da concentração de cobre na célula: $1,0x10^{-9}$ a $1,0x10^{-8}$ mol L^{-1}.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

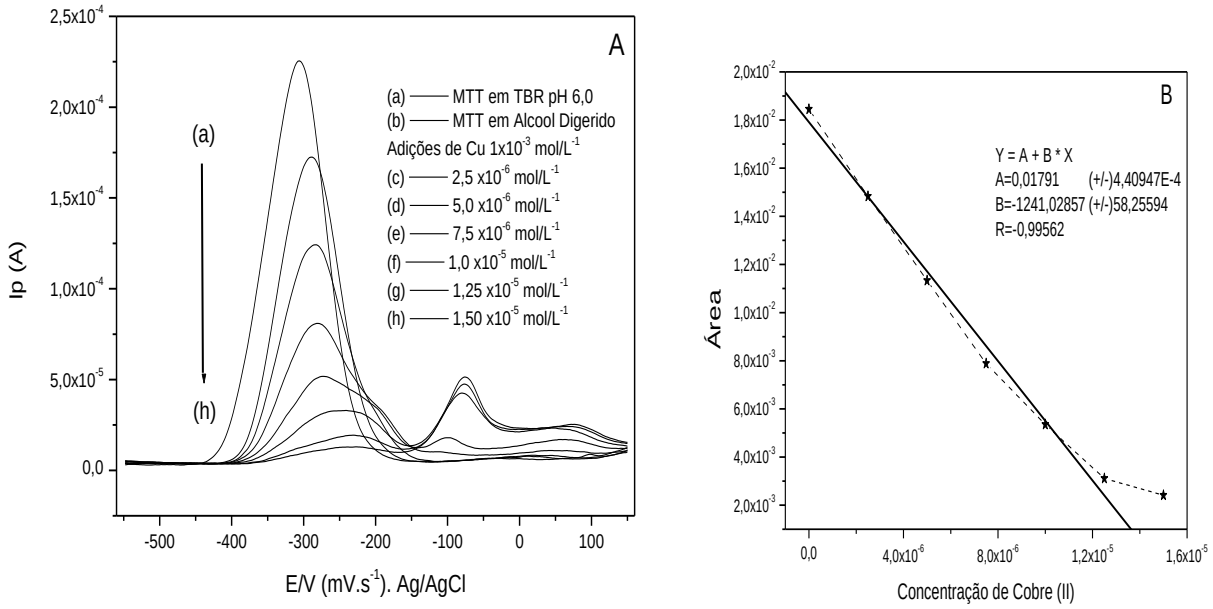


Figura 7. (A) Resposta voltamétrica do EQM pelo MTT em amostra de álcool digerido pH =6,0. (a) [C_{MTT} =1x10^{-3} mol.L^{-1}]; adição de Cobre á célula: (c) 2,5x10^{-6}, (d) 5,0x10^{-6}, (e) 7,5x10^{-6}, (f) 1,0 x10^{-5}, (g) 1,25x10^{-5}, (h) 1,50x10^{-5} mol/L^{-1} velocidade de varredura de v= 100 mV.s $^{-1}$, Amplitude = 100 mV.s $^{-1}$. (B) gráfico da área em função da concentração de cobre em solução.

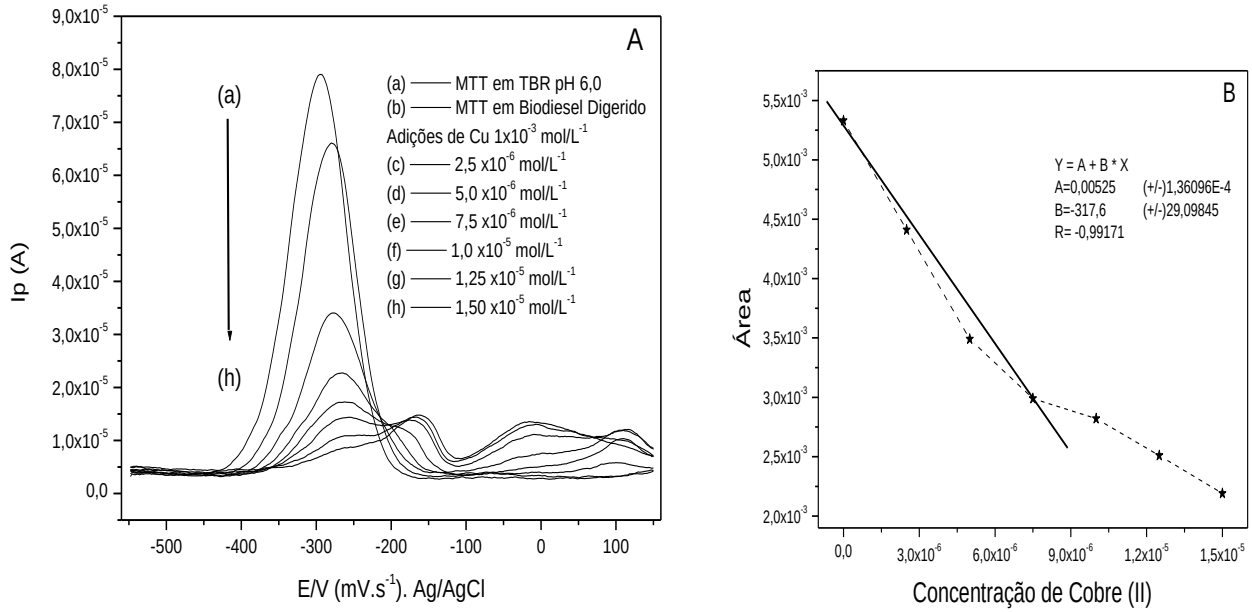


Figura 8. (A) Resposta voltamétrica do EQM em Biodiesel digerido pH=6,0 (a) corresponde ao branco, somente o EQM [C_{MTT} =1x10^{-3} mol. L^{-1}]; (b) EQM em amostra de biodiesel; (c-h) mesmo de (b) após adição de Cobre á célula: (c) 2,5x10^{-6},(d) 5,0x10^{-6}, (e) 7,5x10^{-6}, (e) 1,0 x10^{-5},(g) 1,25x10^{-5}, (h) 1,50x10^{-5} mol/L^{-1} velocidade de varredura de v= 100 mV.s $^{-1}$, Amplitude = 100 mV.s $^{-1}$. (B) gráfico da área em função da concentração de cobre em solução.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

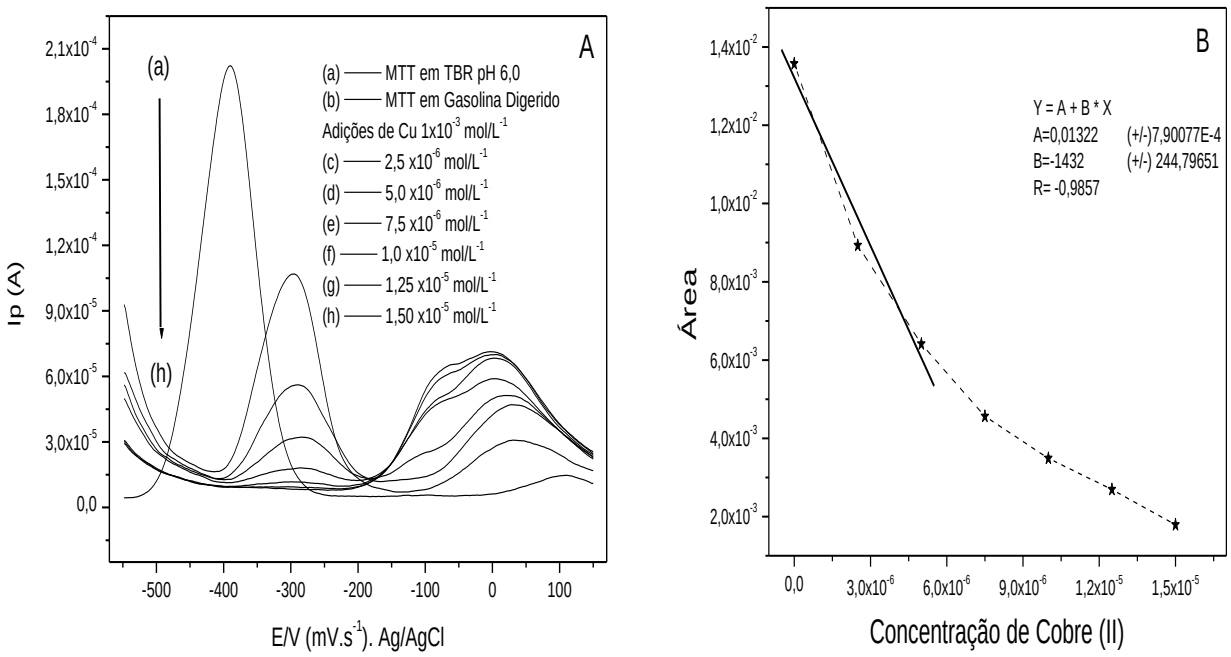


Figura 9. (A) Respostas voltamétricas do EQM em Gasolina digerido pH=6,0. (a) [C_{MTT} =1x 10^{-3} mol.L^{-1}]; (b) mesmo de (a) em amostra de gasolina; (c-h) idem (b) após adições de diferentes concentrações de cobre: (c) 2,5x10^{-6}, (d) 5,0x10^{-6}, 7,5x10^{-6}, (e) 1x10^{-5}, (f) 1,0x10^{-5} , (g) 1,25x10^{-5}, (h) 1,50x10^{-5} mol/L^{-1} (velocidade de varredura de v=100 mV.s^{-1}, Amplitude = 100 mV.s^{-1}. (B) gráfico da área em função da concentração de cobre em solução).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

CONDIÇÕES ASSOCIADAS E PREDITORES ESPECÍFICOS DA SÍNDROME ANTIFOSFOLÍPIDE OBSTÉTRICA

ASSOCIATED CONDITIONS AND SPECIFIC PREDICTS OF OBSTETRIC ANTIFOSPHOLIPID SYNDROME

RODRIGUES, Anielly Neri[1]*; ANDRADE, Izabela Cristina dos Santos[2]; LEON, Carlos Márcio Moura Ponce de[3]

[1,2] Universidade Federal de Campina Grande, Centro de educação e saúde, Departamento de Farmácia, Sítio olho D'água, CEP 58175-000, Cuité – PB
(fone: (83) 3372-1900)

*Anielly Neri Rodrigues
e-mail: anielly_ne@hotmail.com

Received 26 October 2018; received in revised form 06 December 2018; accepted 10 December 2018

RESUMO

A síndrome antifosfolípide (SAF), ou doença de Hughes, uma doença sistêmica autoimune, é a mais comum das trombofilias adquiridas no adulto jovem. Na obstetrícia, ela é caracterizada clinicamente podendo estar associada a outras doenças. O objetivo desse trabalho foi identificar os preditores laboratoriais específicos de alto risco para perda fetal, tal como, as principais sintomatologias associadas. Esse estudo foi realizado através da análise de dados de 1557 pacientes grávidas diagnosticadas com síndrome antifosfolípide clássica. A condição mais associada às pacientes com SAF obstétrica no presente estudo foi à presença de aborto prévio, seguida de parto precoce, trombose, morte fetal, aborto recorrente e pré-eclâmpsia. Os preditores laboratoriais associados à síndrome antifosfolípide obstétrica foram o anticoagulante lúpico e a anticardiolipina IgG/IgM. É necessário que se faça um estudo para complementar o perfil das pacientes dessa síndrome na gravidez, pois, o desenvolvimento de anticorpos antifosfolípideos parecem ser frequentes em pacientes gravemente enfermos, sendo, porém necessários mais estudos para esclarecer seu papel patogênico e suas implicações na prática clínica.

Palavras chave: *Síndrome Antifosfolipídica, trombofilia, Aspirantes a Aborto, Doenças Urogenitais Femininas e Complicações na Gravidez.*

ABSTRACT

The antiphospholipid syndrome (APS), or Hughes's disease, an autoimmune systemic disease, is the most common thrombophilias acquired in the young adult. In obstetrics, it is characterized clinically and may be associated with other diseases. The objective of this study was to identify the specific laboratory predictors of high risk for fetal loss, as well as the main associated symptomatologies. This study was performed through data analysis of 1557 pregnant patients diagnosed with classic antiphospholipid syndrome. The condition most associated with patients with obstetric SAF in the present study was the presence of previous abortion, followed by early delivery, thrombosis, fetal death, recurrent abortion and pre-eclampsia. The laboratory predictors associated with obstetric antiphospholipid syndrome were lupus anticoagulant and anticardiolipin IgG / IgM. It is necessary to carry out a study to complement the profile of the patients of this syndrome in pregnancy, because the development of antiphospholipid antibodies appear to be frequent in critically ill patients, but more studies are necessary to clarify their pathogenic role and its implications in clinical practice.

Keywords: Antiphospholipid Syndrome, thrombophilia, Abortion Aspirants, Female Urogenital Diseases and Pregnancy Complications.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

A síndrome antifosfolípide (SAF), ou doença de Hughes, é uma doença sistêmica autoimune, sendo a trombofilia adquirida mais comum em adultos jovens. Na obstétricia, ela é caracterizada clinicamente, pela ocorrência de anormalidades na gestação, podendo estar associada, à trombose venosa, arterial ou micro circulatório recorrente, principalmente em pacientes não tratadas (George; Erkan, 2009; Levy, 2011; Emmi *et al*., 2014; Cabrera *et al.,* 2017; Santos et al., 2018).

A parte obstétrica da síndrome antifosfolípide pode resultar em vários efeitos adversos de gravidez, entre eles, morte fetal, aborto recorrente, parto prematuro, (principalmente em pacientes com pré-eclâmpsia grave ou insuficiência placentária), além de trombose em grávidas levando a uma taxa mais elevada de morbidade materna e fetal principalmente em pacientes com anticorpos antifosfolípides onde verifica-se um aumento do risco de aborto em pacientes grávidas. (Aliani *et al*., 2009; Bertolaccini *et al.,* 2014; Abrahams; Chamley; Salmon, 2017). Segundo Jameil (2015), são a razão mais importante para o aborto recorrente, sendo essa a primeira complicação obstétrica relacionada a anticorpos antifosfolípides, causando de 5 a 10% dos abortos de repetição.

Como os antifosfolípides são um grupo heterogêneo de anticorpos, que possuem diversos mecanismos de ação, é pouco provável que a morbidade obstétrica seja causada por um único mecanismo, como o infarto e / ou a trombose (Damige *et al*., 2016).

Fosfolipídios estão presentes nas membranas celulares e são estruturalmente componentes lipídicos polares, os anticorpos antifosfolípides constituem um grupo heterogêneo de anticorpos produzidos por auto autoimunes. Pacientes com síndrome antifosfolipíde possuem anticorpos que reconhecem proteínas do plasma quando associadas à fosfolípidios de membrana. Os principais anticorpos antifosfolipídes são o anticoagulante lúpico, a anticardiolipina e a βglicoproteínaI (Miyakis *et al.,* 2006; Soligo, 2007; Tincani *et al*, 2009; Branch; Gibson; Laat; Groot, 2010; Silver, 2010; Carvalho, 2018; Henry, 2012; Rand; Wolgast, 2012).

Uma superexpressão local do autoantígeno alvo (β2GPI) para antifosfolipídios patogênicos foi sugerido para explicar pelo menos parte da patogênese das manifestações obstétricas. Os anticorpos antifosfolipídios ativam células endoteliais e plaquetas através da β2GPI (Groot; Derksen, 2005; Meroni *et al*., 2011; Abrahams; Chamley; Salmon, 2017).

Em todas as mulheres com anticorpos antifosfolípides positivos, é altamente contra indicado o uso de anticoncepcionais combinados, ou terapia de reposição hormonal, tromboses arteriais ou venosas serão tratadas com anticoagulante, como a varfarina ou heparinas não fracionada e de baixo peso molecular, o tratamento é utilizado por toda a vida e o alvo terapêutico é determinado pelo INR. Um grande desafio em relação à obstetrícia, é que, o tratamento de eventos obstétricos relacionados à antifosfolipídios não é apoiado por resultados consistentes de estudos bem planejados (Bertolaccini *et al.,* 2014; Merashli *et al*., 2015).

O objetivo desse trabalho foi realizar uma revisão da literatura sobre a síndrome antifosfolipídica obstétrica, verificar as condições associadas a essa doença e identificar os preditores específicos de alto risco.

DESENVOLVIMENTO

2.1. Metodologia aplicada

O presente estudo tratou-se de uma revisão bibliográfica do tipo integrativa, o tipo de estudo foi a análise de uma série de casos. Foram utilizados artigos entre 2005 e 2018, na língua espanhola, inglesa e portuguesa. Foram confeccionados gráficos através de dados obtidos em artigos selecionados através do software Microsoft Excel (planilha de cálculo e elaboração de gráficos) Os descritores utilizados foram: síndrome antifosfolípide na gravidez, trombofilia adquirida, aborto de repetição, anticorpos antifosfolípides, evidenciando o anticorpo anticardiolipina, antiβ2GP1 e anticoagulante lúpico.

2.2. População de estudo

Através da análise de dados dos artigos analisados, foram obtidas 1557 pacientes grávidas diagnósticas com síndrome antifosfolípide clássica.

2.3. Fontes de informação

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Os bancos de dados utilizados foram periódicos como Scielo (Centro América Latina e Caribe em Ciências da Saúde), Pubmed, Bvs (biblioteca virtual em saúde), Saúde baseada em evidência, Portal do capes, comitês internacionais e nacionais de saúde, livros e dissertações.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A condição mais associada às pacientes com SAF obstétrica foi histórico de aborto (42,1%) seguido de parto precoce (35,9%), trombose (31,1%), morte fetal (25,44%), aborto recorrente (25,3%), pré-eclâmpsia (21,73%), insuficiência placentária (13,56%) e hipertensão (11,0%) (Figura 1).

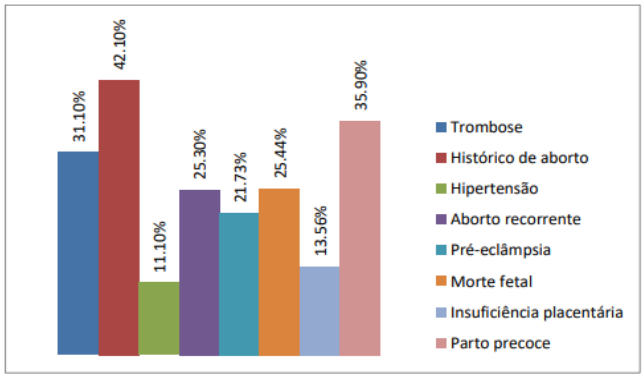


Figura 1. *Condições associadas à SAF obstétrica*

Em relação à SAF obstétrica concomitante com outras enfermidades a trombose esteve presente em 68% das pacientes estudadas em Mekinian *et al*. (2017) e em Lockschin *et al*.(2012), 53,57% . Em Saccone *et al*. (2017) manifestou se 22,5% das pacientes. Já em Matsuk *et al*.(2014) e Latino *et al*.(2017) depararam se com valores, respectivamente de 7% e 4,7%. A média geral, de acordo com o apresentado na figura 1, foi de 31,1% indicando que há relação entre a SAF gestacional e a trombose, apenas Matsuk *et al*.(2014) e Latino *et al*.(2017) não confirmaram essa teoria.

A hipertensão ocorreu em 21,4% dos casos em Lockschin *et al*.(2012), já em Matsuk *et al*.(2014) ocorreu em 13,3% das pacientes. Em Soh *et al*.(2013) apresentou se em 9,6%, Mekinian *et al*. (2017) em 8% e em Bouvier *et al*. (2013) foi encontrado 3,2%, a média geral foi de 11, 10% não indicando alta relação mostrando pouca associação entre essas doenças (Figura 1).

Com relação às manifestações características da parte obstétrica da SAF obstétrica, pré-eclâmpsia foi identificada principalmente no estudo de Saccone *et al*. (2017) em 68% das pacientes com a síndrome antifosfolípide obstétrica. Houve uma queda significante para o seguinte que foi Lockschin *et al*.(2012) com 21,42%, e um declínio ainda maior em Latino *et al*.(2017) 16%, Mekinian *et al*. (2017) 10%, Soh *et al*.(2013) 9,6%, e Bouvier *et al*.(2013) com 5,4% (gráfico 1). A média geral desse evento no atual ensaio foi de 21,73% (Figura 1).

Abortos anteriores foram encontrados em 75% dos casos de Lockschin *et al*.(2012), esteve presente em 71% Mekinian *et al*. (2017). Em Saccone *et al*. (2017) manifestou se em 66,15% e em 56,2% de Soh *et al*.(2013). Latino *et al*. (2017) 31% das pacientes sofreram abortos prévios, entretanto em Bowman *et al*.(2015) foram identificadas em 21%, em Bouvier *et al*. (2013) apresentou se em 9,5% . Apenas em 7% das pacientes de Matsuk *et al*.(2014) esse episódio ocorreu. A média de todos os estudos foi de 42% sendo superior a encontrada na literatura (Santos, 2014).

Parto prematuro segundo Lockschin *et al*.(2012) esteve ligado a 57,14% dos casos, já Latino *et al*.(2017) foi encontrada 42,4% das enfermas e em Matsuk *et al*.(2014) ocorreu em 40%. No entanto a partir de houve redução nesses valores 35 com Mekinian *et al*. (2017) apresentando 22,5%, Soh *et al*.(2013) 17,8%. A média entre todos os autores foi de 35,9% (Figura 1).

Insuficiência placentária (Gráfico 1) Saconne *et al*. (2017) associou a 20,8% dos casos, em Lockschin *et al*.(2012) estive presente em 14,28%, Matsuk *et al*.(2014) em 13,3% dos casos e em Bouvier *et al*. (2013) em 12,5%, no entanto em Soh *et al*.(2013), havendo retraimento entre os valores anteriores estado presente em 6,8%, a média encontrada nesse estudo foi de 13,56%.

Morte fetal ocorreu em 50% das pacientes estudadas por Lockschin *et al*.(2012) e em proporção semelhante em Latino *et al*.(2017) com 46,2%. Saconne *et al*.(2017) em 26%, e em Bowman *et al*.(2015) mostrou taxa de 15,7%, sendo similar a Soh *et al*.(2013) apresentando 13,6%, em Bouvier *et al*. (2013) a taxa foi insignificante aparecendo em 1,2% apenas. A média de todas as gestantes estudadas foi de 25,44% (Figura 1).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Entre os estudos analisados a taxa de abortos recorrentes corresponde a Lockschin *et al*.(2012) com 53,57%. Já em Latino *et al*.(2017) foi 31%, Mekinian *et al*. (2017) 30%, Soh *et al*.(2013) 26%, estes apresentaram valores semelhantes. Bowman *et al*.(2015) com 21% houve pouco decaimento, entretanto em Bouvier *et al*., (2013) houve redução significativa sendo encontrada em 9,5%. A média encontrada foi de 25%, Salmon, Girardi e Lockshin (2007) afirmaram que aproximadamente um quarto das mulheres que sofrem abortos recorrentes tem SAF, esse número levando em consideração que abortos recorrentes estiveram presentes em 25% das pacientes estudadas (Salmon; Girardi; Lockshin, 2007). Uma limitação desse estudo é que as características clínicas e a hipertensão não puderam ser estudadas separadamente, pois os autores não especificam quantas pacientes possuem mais de um sintoma (aborto prévio, parto precoce, trombose, morte fetal esteve presente em aborto recorrente, pré-eclâmpsia, insuficiência placentária), assim, as pacientes da síndrome antifosfolípide podem possuir mais de uma queixa associada ao quadro clínico, não sendo possível identificar a predominância destas doenças isoladamente.

Segundo análise de dados da figura 2, o anticorpo contra fosfolipídio mais encontrado foi a anticardiolipina IgG/IgM (52,2%), em segundo lugar foi encontrado o anticoagulante lúpico (51%), seguido da anticardiolipina IgM (45,6%). Tanto o anticorpo anticardiolipina IgG, como o IgM (aCL) foram claramente relacionados às perdas fetais recorrentes antes de 24 semanas de gestação (Ruiz-irastorza; Khamashta, 2007).

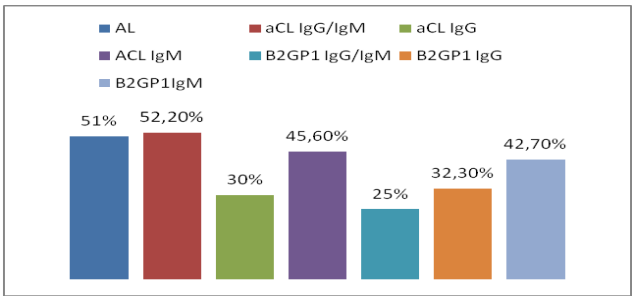


Figura 2. *Distribuição de anticorpos*

O nível de anticorpos anticardiolipina IgM foi significativamente maior no grupo pré-eclâmptico, com um nível de significância de 95%, indicando anticorpos anticardiolipina na patogênese da pré-eclâmpsia como provável marcador sorológico inicial. Foi relatada uma associação entre aCL IgG (incluindo de baixa a moderada) em 153 abortos recorrentes ocorrendo com menos de 13 semanas de idade gestacional (Opatrny,2006; Pereira *et al*., 2015).

O anticoagulante lúpico esteve presente em 51% dos casos sendo apoiado por Lockschin et al.(2012), Soh *et al*., (2013), Latino *et al*.,(2017), Mekinian *et al*., (2017), Bouvier et al., 2013) porém esse valor pode ter sofrido influência em Bowman *et al*., (2015) onde não foi encontrado nenhum anticorpo anticoagulante, pode ter se dado, pois, a utilização de anticoagulante pelas pacientes, pode ter afetado a detecção desse antifosfolipídio, Saccone *et al*., (2017) também detectou baixos valores de anticoagulante lúpico. Ele foi definido como o principal preditor de resultado adverso da gravidez após 12 semanas de gestação em gravidezes associadas a antifosfolipídios, sua presença associada a anticorpos anticardiolipina (aCL) e antiβ2 glicoproteína I (antiβ2GPI) está fortemente associada à trombose e à morbidade da gravidez, como geralmente é encontrado associado a outros antifosfolipídios o significado clínico do AL isolado é um achado incomum e controverso (Lockshin *et al*., 2012, Hoxha *et al*., 2017) .

O β2GP1 IgM também esteve ligado 42,7% mostrando alta associação com resultados adversos de gravidez podendo ser explicada pela alta afinidade entre ela e a anticardiolipina (SOLIGO, 2017).

Os menos encontrados foram a β2GP1 IgG isolada e β2GP1 IgG/IgM e anticardiolipina IgG (figura 3).

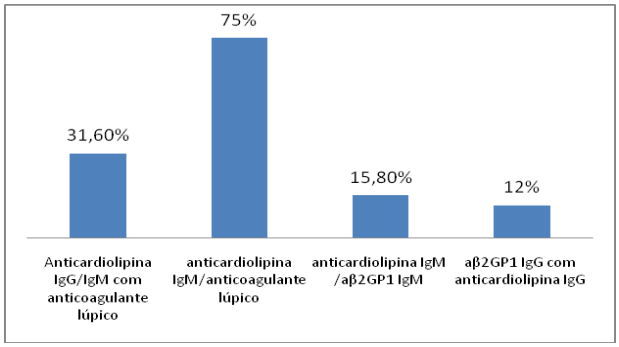


Figura 3. *Associação de mais de anticorpos*

Anticardiolipina IgG/IgM associada a anticoagulante lúpico foi relacionada a média de 31,6%, a associação entre anticardiolipina IgM e AL, anticardiolipina IgM e β2GP1 IgM e β2GP1 IgG/anticardiolipina IgG foram encontrados em

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

apenas um estudo apresentando valores de 75%, 15,8% e 12% respectivamente, assim indica se mais estudos sobre a associação entre articardiolipina IgM e β2GP1(figura 3), indicando alta relevância no diagnóstico.

Mulheres com síndrome antifosfolipidica têm probabilidade aumentada de sofrer complicações quando há mais de um anticorpo antifosfolípide presente, apesar da utilização da terapia indicada com aspirina em baixas doses e heparina profilática de baixo peso molecular, a chance de um uma mulher triplo positivo dar à luz a um bebê nascido vivo é de apenas 30% para mulheres triplas positivas (Saccone *et al*., 2017).

CONCLUSÕES:

As pacientes avaliadas pelos artigos nesta revisão relataram queixas de aborto recorrente durante a anamnese. Foi identificada uma forte relação entre histórico prévio de aborto, parto precoce, um quarto das pacientes apresentou aborto espontâneo recorrente. A condição mais associada, às pacientes com SAF obstétrica, no presente estudo foi à presença de aborto prévio (42,1%). Os preditores laboratoriais mais associados à síndrome antifosfolípide obstétrica foram, o anticoagulante lúpico e a anticardiolipina IgG/IgM, e a associação mais encontrada foi a de anticardiolipina IgM com AL, porém esse esteve presente em apenas um estudo. Sendo uma limitação desse estudo a falta de dados para associá-los.

REFERÊNCIAS:

1. Abrahams, Vikki M.; Chamley, Lawrence W.; Salmon, Jane E. Emerging Treatment Models in Rheumatology: Antiphospholipid Syndrome and Pregnancy. Arthritis & Rheumatology, [s.l.], v. 69, n. 9, p.1710-1721, 18 jul. **2017**.
2. Aliani, Natália Arruda et al. Síndrome do anticorpo antifosfolípide: relato de caso e revisão da literatura: Antiphospholipid antibody syndrome: case report and review of the literature. Rev. Méd. Minas Gerais, Minas Gerais, p.69-74, **2009.**
3. Bertolaccini, Maria Laura et al. 14th International Congress on Antiphospholipid Antibodies Task Force. Report on antiphospholipid syndrome laboratory diagnostics and trends.Autoimmunity Reviews, [s.l.], v. 13, n. 9, p.917-930, set. **2014.**
4. Bouvier, s. Et al. Comparative incidence of pregnancy outcomes in treated obstetric antiphospholipid syndrome: the noh-aps observational study. Blood**,** [s.l.], v. 123, n. 3, p.404-413, 7 nov. **2013**. American society of hematology.
5. Branch, d. W.; gibson, m.; silver, r. M.recurrentmiscarriage. New englandjournalof medicine, [s.l.], v. 363, n. 18, p.1740-1747, 28 out. **2010**.
6. Cabrera, d. M. Et al. Controversias del síndrome de anticuerposantifosfolipídicos en obstetricia. Reumatologíaclínica, [s.l.], v. 13, n. 1, p.30-36, jan. **2017**.
7. Carvalho, J. F. de. AnticorposAntifosfolípides. Disponível em:
8. <https://www.reumatologia.org.br/pacientes/orientacoes-ao-paciente/anticorpos-antifosfolipides/>. Acesso em: 15 jan. *2018.*
9. Emmi, G. *et al*. An approach to differential diagnosis of antiphospholipid antibody syndrome and related conditions. The scientific world journal, v. 2014, p.1-8**,** **2014**. Hindawi limited.
10. George, d.; erkan, d. Antiphospholipid syndrome. Progress in cardiovascular diseases, v. 52, n. 2, p.115-125, set. **2009**. Elsevier bv.
11. Groot, P. G.; Derksen, R. H. W. M.. Pathophysiology of the antiphospholipid syndrome. Journal Of Thrombosis And Haemostasis, [s.l.], v. 3, n. 8, p.1854-1860, ago. **2005.**
12. Henry, J. B.; Abordagem laboratorial do riscotrombó tico. In: HENRY, John Bernar. Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais de Henry. 21. ed. S.l: Manole, **2012.**
13. Jameil, n. Et al. Incidence of anticardiolipin antibodies and lupus anticoagulant factor among women experiencing unexplained recurrent abortion and intrauterine fetal death. International journal of clinical and experimental pathology, arábiasaudita, v. 8, n. 3, p.3204-3209, mar. **2015.**

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

14. Latino, j o et al. Pregnancy failure in patients with obstetric antiphospholipid syndrome with conventional treatment: the influence of a triple positive antibody profile**.** Lupus, [s.l.], v. 26, n. 9, p.983-988, 7 fev. **2017**. Sage publications.

15. Levy, r.; jesús, g.; jesús, nr. Obstetric antiphospholipid syndrome: still a challenge. Lupus, v. 19, n. 4, p.457-459, 30 mar. **2010**.

16. Lockshin, m. D. Et al. Prediction of adverse pregnancy outcome by the presence of lupus anticoagulant, but not anticardiolipin antibody, in patients with antiphospholipid antibodies. Arthritis & rheumatism, [s.l.], v. 64, n. 7, p.2311-2318, 26 jun. **2012**. Wiley.

17. Matsuki, yuko et al. Clinical features and pregnancy outcome in antiphospholipid syndrome patients with history of severe pregnancy complications. Modern rheumatology**,** [s.l.], v. 25, n. 2, p.215-218, 22 ago. **2014**. Informa uk limited.

18. MERASHLI, Mira et al. Antiphospholipid syndrome: an update. European Journal Of Clinical Investigation, [s.l.], v. 45, n. 6, p.653-662, 24 abr. **2015.**

19. Mekinian, a. Et al. Refractory obstetrical antiphospholipid syndrome: features, treatment and outcome in a european multicenter retrospective study. Autoimmunity reviews, [s.l.], v. 16, n. 7, p.730-734, jul. **2017**.

20. MERONI, Pier Luigi et al. Pathogenesis of antiphospholipid syndrome: understanding the antibodies. Nature Reviews Rheumatology, [s.l.], v. 7, n. 6, p.330-339, 10 maio **2011**.

21. Miyakis, S. etal.International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). Journal Of Thrombosis And Haemostasis, v. 4, n. 2, p.295-306, fev. **2006.**

22. Laat, B. de; Groot, P.G. de.; Autoantibodies Directed Against Domain I of Beta2- Glycoprotein I. Current Rheumatology Reports, v. 13, n. 1, p.70-76, 3 nov. **2010**

23. Opatrny, l. Association between antiphospholipid antibodies and recurrent fetal loss in women without autoimmune. The journal of rheumatology, [s.l], v. 33, n. 11, p.214-221, set. 2006., opatrny. Association between antiphospholipid antibodies and recurrent fetal loss in women without autoimmune. The journal of rheumatology, [s.l], v. 33, n. 11, p.214-221, set. **2006**.

24. Pereira, k. N. Et al. Level of reactivity of igm anticardiolipin antibodies in preeclampsia: a likely early serologic marker. Jornal brasileiro de patologia e medicina laboratorial, [s.l.], v. 51, n. 1, p.287-297, **2015**. Gn1 genesis network.

25. Rand J.H.; Wolgast L.R. Dos and don'ts in diagnosing antiphospholip- id syndrome. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. P. 455-459. **2012.**

26. Saccone, g. Etal.antiphospholipid antibody profile based obstetric outcomes of primary antiphospholipid syndrome: the pregnants study. American journal of obstetrics and gynecology, v. 216, n. 5, p.1-42, maio **2017**.

27. Salmon, jane e; girardi, guillermina; lockshin, michael d. The antiphospholipid syndrome as a disorder initiated by inflammation: implications for the therapy of pregnant patients. Nature clinical practice rheumatology**,** [s.l.], v. 3, n. 3, p.140-147, mar. **2007**. Springer nature.

28. Santos, f. C. Et al. Anticoagulação na gravidez. Revista hospital universitário pedro ernesto, v. 14, n. 2, dez. **2015**. Issn 1983-2567. Acesso em: 01 abr. 2018.

29. Soh, m. C. Et al. Persistent antiphospholipid antibodies do not contribute to adverse pregnancy outcomes. Rheumatology, [s.l.], v. 52, n. 9, p.1642-1647, 16 maio **2013**. Oxford university press (oup).

30. Soligo, Adriana de Góes e Silva et al. Prevalência dos fatores trombofílicos em mulheres com infertilidade. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia, [s.l.], v. 29, n. 5, p.235-240, maio **2007**.

31. Tincani, a. Et al. Neonatal effects of maternal antiphospholipid syndrome. Current rheumatology reports, [s.l.], v. 11, n. 1, p.70-76, fev. **2009**.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INVESTIGAÇÃO EXPERIMENTAL SOBRE CORANTES NATURAIS / REVESTIMENTOS DE QUITOSANA APLICADOS EM EMBALAGEM CELULÓSICA

EXPERIMENTAL RESEARCH ON NATURAL COLORS / COATINGS OF CHITOSAN APPLIED IN CELLULOSIC PACKAGING

PEREIRA, Anna Clara Marinho[1,2]; DOMINGOS, Ana Lisa Moreira[1,2]; NOLETTO, Ana Paula Reis[3]; REIS, Arlete Barbosa[1,4*]

[1] Federal University of Vales do Jequitinhonha e Mucuri, MGT 367 Highway- Km 583, 5000, Alto da Jacuba, zip code 39100-000, Diamantina – MG, Brazil, (phone: +55 38 3532 1200)

[2]Science and Technology Institute

[3] CETEA/ITAL- Food Packaging Technology Center / Food Technology Institute-Campinas/SP
[4] Chemistry Engineering Department,

** Corresponding author*
e-mail: arlete.reis@ict.ufvjm.edu.br

Received 30 October 2018; received in revised form 5 December 2018; accepted 10 December 2018

RESUMO

A indústria de embalagem é um dos setores mais importantes da economia, reconhecido e diagnosticado como estratégico para a sociedade. Com isso, tecnologias têm surgido visando o desenvolvimento sustentável e a procura por materiais que minimizem os danos ao meio ambiente. Paralelamente à necessidade de inovação, garantia de qualidade e praticidade a ser propiciada ao consumidor, existe a preocupação com seu destino final de forma econômica e ambientalmente correta. Inseridos nesse contexto, estão as embalagens celulósicas e a substituição de revestimentos à base de polímeros sintéticos por polímeros naturais. No presente trabalho, foram desenvolvidos revestimentos à base do biopolímero quitosana com a adição dos corantes naturais: antocianina e urucum (*Bixa Orellana* L.), intitulados PCA2 e PCU2, respectivamente. Amostras de papel (277 g/m^2) foram revestidas e caracterizadas quanto à Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), espessura, gramatura e propriedades de barreira: WVPR, COBB e resistência à tração. As análises de gramatura e resistência à tração não apresentaram diferenças estatísticas. Houve redução de WVPR da ordem de 38,6% e 24,2% para as amostras de PCA2 e PCU2, respectivamente, quando comparadas às amostras sem revestimento (PU). Fato semelhante ocorreu com a análise COBB, houve redução da ordem de 14,8% e 29,62%.

Palavras-chave: Embalagens, Quitosana, Corantes Naturais, Revestimento

ABSTRACT

The packaging industry is one of the most important sectors of the economy, recognized and diagnosed as strategic for society. With this, technologies have arisen aiming at sustainable development and the search for materials that minimize damages to the environment. At the same time, the need for innovation, quality assurance and practicality to be offered to the consumer, there is concern about its final destination in an economical and environmentally correct way. Included in this context are the cellulosic packaging and the substitution of coatings based on synthetic polymers by natural polymers. In the present work, coatings based on the chitosan biopolymer were developed with the addition of natural dyes: anthocyanin and urucum (*Bixa Orellana* L.), entitled PCA2 and PCU2, respectively. Samples of paper (277 g/m^2) were coated and characterized as Scanning Electron Microscopy (SEM), thickness, weight and barrier properties: WVPR, COBB and tensile strength. Weight and tensile strength analyzes showed no statistical differences. There was a reduction of WVPR of the order of 38.6% and 24.2% for the PCA2 and PCU2 samples, respectively, when compared to uncoated samples (PU). Similar fact occurred with the COBB analysis, there was reduction of the order of 14.8% and 29.62%.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Keywords: Packaging, Chitosan, Natural Dyes, Coating

1. INTRODUCTION

The growth of the global packaging market is being driven by a number of general trends such as increasing urbanization, construction investments, health sector expansion and the rapid development still evident in emerging economies (Sarantópoulus & Rego, 2012). In the packaging segment, the main factors of influence are: the consumer, the new distribution channels and the environmental aspects (Madi, 2000). Concerns about the environment has been discussed in this sector, at the same time, issues of inadequate disposal also cover this aspect, since the design of the packaging itself to its disposal. Various types of compounds are widely used in a paper production process. For instance, fillers, adhesives, plasticizers, dyes and other additives which are used to improve the functional and visual properties of the final product (Nowacka *et al*., 2018).

In this case, it can be stated that the concern with the discard of synthetic packaging, the reduction of oil reserves, the search for new objective, feasible and cost effective methods, which besides maintaining the integrity of the product, confers quality, safety and consumer confidence (Aider, 2010). Another way to ensure consumer safety is to make sure that your product after used will not collaborate with the already high level of environmental pollution, even if visually, when disposed of in landfills and dumps control and / or reliable information about its final destination. In this context, the use of natural polymers in the development of flexible packaging have been studied as a way of guaranteeing sustainability of the same, as well as coatings based on biopolymers, applied in cellulose packaging. Biodegradable polymers derived from renewable resources are highlighted as the future generation of packaging materials, like Poly (lactic acid) (PLA), starch, cellulose, chitosan, agar, alginate, proteins are some of the biopolymers that can be named in this large class of materials (Souza & Fernando, 2016).

Among the natural polymers, chitosan has aroused interest, since it is biodegradable indeed, it comes from renewable sources, besides being able to form filmogenic solutions that can be used as coatings, mainly due to the performance of its functional groups. In their work, Fráguas *et al*. (2015) produced chitosan films from the 0.5% concentration, and observed that they were homogeneous, thin, transparent and flexible, in addition to having basically the same functional groups. Muzzarelli (2001) states that acidic aqueous solutions of chitin form films or coatings of chitosan and can be used for coating surfaces. In this way, it is possible to assure that many applications of chitosan have been suggested. The most studied topics are: protein removal, metal ion removal, effluent treatment and applications in the textile and paper industry (Peter, 2002). It can also be used as a protective film in the application of packages (Kittur *et al*., 1998). Second, Tan *et al*., (2015), afirmed the introduction of hydrophobic substituents into the glycosidic groups can improve the overall hydrophobicity of chitosan. This will increase your surface activity which plays a huge role in the incorporation and controlled release of insoluble water and therefore may be of great importance in packaging applications.

In this context, the structural interaction of chitosan is determined by the amine group. The electron double that is free on the nitrogen atom of amine group. The more the deacetylation, more is the number of free amine groups for interactions. The interaction is dependent on several properties such as pH, concentration of metallic ions, the size, solvents, nature of chitosan (whether protonated or deprotonated) etc. Stronger interactions lead to multi layers from oriented fibres. Further modifications in interactions can be modulated by chemical conjugation of chitosan with other groups (Annapoorna *et al*., 2018).

Another advantage of using the chitosan biopolymer in the packaging sector is the use of the polymer matrix as coatings that can be used in several areas, such as obtaining intelligent packaging, which acts as an indicator of the internal characteristics of the packaged product. Coating with natural dyes is still poorly studied, but it has been found in the literature tests of barrier properties in coatings in the researches of Kuusipalo *et al.,* (2005) studying the effects of chitosan films applied as coating on sheets of paper (90 g / m^2), found a slight improvement of the mechanical properties and reduction of water absorption. Ham-Pichavant *et al*., (2005) researching the use of chitosan as a coating on

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

sheets of Kraft paper, found good barrier to fat.

Studies can be carried-out for establishing new protocols of chitosan film processing involving economical and natural ingredients avoiding the use of costly chemicals. The availability of chitosan sources is still constrained which limits the mass production of chitosan at industrial scale, so in this context, the studies should be focused on exploring new and easily accessible sources of chitosan. Research can be undertaken for finding novel sources of plant extract, as many novel plant extracts with possible desirable attributes are still unexplained in terms of their applications in chitosan blend films (Mujtaba *et al*., 2018).

On the other hand, the use as a coating on the packaging is advantageous and promising application. On the packaging coating is commonly used to add a thin layer of a plastic on to the surface of another plastic film or, more commonly, onto a nonplastic substrate, such as paper, cellophane, or foil. The Coating can improve barrier properties and also helps to avoid the base material directly contacting the product, helps to impart heat sealability for plastics that are not heat sealed easily, and protects base materials, such as paper or cellophane from moisture. These coating is usually in the form of a solution, a suspension, or a melt (Fellows, 2016), (Mangaraj *et al*., 2009).

As a way of exemplifying, we can include the cellulosic packages coated with polymer solutions composed of biopolymer + dyes and, in the case of dyes, aiming sustainability of the obtained packages, nothing more indicated than replacing the dyes commonly found in the market, such as natural dyes. Several researches are being developed to evaluate the application of chitosan films to the surface or even during the papermaking process; as well as the characteristic of the biopolymer chitosan with its ability to act as a vehicle for addition of various additives, such as lipids, dyes and others. That researches aim to improve the mechanical and barrier properties, and to reduce the amount of chemical additives in packaging and paper-based packaging systems. Wieczoreck & Mucha (1997) studied the application of chitosan solution in Canson paper sheets (brand CO, France) and observed an increase in mechanical properties (tension at rupture and elongation).

The same result was obtained by Kamel *et al*., (2004), by immersing sheets of paper in chitosan solution, observing an increase in tear stress and tearing factor, results attributed to the greater number of interfiber bonds and the compatibility between chitosan and paper sheet fibers. Bordenave *et al*., (2007) found no statistically significant differences for the paper coated with chitosan. Novel polymer blend combinations can be investigated for blending chitosan-based film, which will enable the chitosan-based films to compete for the commercially available packaging materials (Mujtaba *et al*., 2018).

The substitution of these synthetic compounds on the packaging surface and the use of natural dyes. These can be derived from plants, animals and microorganisms presenting the different colors and functional properties (Hasler, 2000). Among the natural dyes that stand out most for industrial application are anthocyanins, urucum (*Bixa Orellana* L.), cochineal carmine, curcumin, betalains and chlorophylls, which due to their natural characteristics and their specifics can be used in the development of active and intelligent packaging. Demczuk *et al*., (2015) relatam que após a industrialização do urucum, são gerados em média 96% de resíduos, que depois de secos e triturados podem ser reutilizados. a diversidade de produtos que podem ser obtidos a partir das sementes de urucum é útil para satisfazer a necessidade de aplicação em vários tipos de alimentos industrializados.

Demczuk *et al*., (2015) report that after the industrialization of annatto, 96% of the residues are generated, which after drying and crushing can be reused. the diversity of products that can be obtained from urucum seeds is useful to meet the need for application in various types of industrialized foods. Silva *et al*., (2006) reported that the urucum seed improves the egg yolk pigmentation of laying hens fed with high levels of sorghum in the feed, assigning to the by-product up to 12% inclusion in the feed. Albach *et al*., (2016), extracted norbixin dye from urucum seeds via alkaline hydrolysis and then used as a graft in poly-ethylene-vinyl alcohol copolymer (EVAL). This guarantees the increase of applications, since EVAL is already widely used in packaging. Choi *et al*., (2017) developed potato starch films with anthocyanins, resulting in a colorimetric non-toxic pH indicator film, denoting their potential for applications in intelligent food packaging materials.

Dyes derived from urucum are extensively used in the food industry. Its peculiar

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

characteristics such as the one that makes it possible to obtain water soluble or liposoluble dyes from small changes in the production processes was one of the success factors of this pigment. Medina-Flores *et al*.,(2016) study results partially validate the *Bixa Orellana* L. applications in the odontology field, with antimicrobial properties and a non-toxic profile. It is observed recently, on the last five years; efforts have been devoted to the study of physicochemical characteristics of the different structures of carotenoids that participate in the so-called annatto dye (Von Elbe, 2000). Anthocyanins are compounds of the flavonoid family and constitute a group of pigments responsible for most of the colors in flowers, fruits, leaves, stems and plant roots (Markakis, 1982). Anthocyanins are natural water-soluble pigments that have wide response ranges to pH variation (Zhai *et al*., 2017). Among plant-based natural dyes, anthocyanins have a sensitive color reaction to wide pH ranges (Choi 2017). Zhai *et al*., (2017), developed a pH sensing film by incorporating anthocyanins extracted from *Bauhinia blakeana* Dunn with chitosan and the pH sensing film presented a distinguishable color change from purple to green due to the basic volatile gases generated from the fish, suggesting that the anthocyanins-based colorimetric films were good candidates of gas sensors for monitoring fish freshness.

In this context, in the present work two types of coatings were developed: one chitosan based coating containing the natural urucum (*Bixa Orellana* L.) dye and other chitosan based coating containing the anthocyanin natural dye, were studied. In order to do so, two types of coatings titled PCA2 and PCU2 were produced, corresponding to the coatings: Chitosan 1%+Anthocyanin 2% and Chitosan 1%+Urucum 2%, respectively. Both coating were applied on sheets of 277 g/m^2 card paper, in the proportion of 0.752 mL$_{solution}$ /mm^2. After coating, the sheets of card paper were subjected to the characterization of the barrier properties from packaging system. The objective was to evaluate the performance of coated papers compared to uncoated paper.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1 Material

For the accomplishment of the present work the following materials were used: Chitosan (Polymar-Brazil); Acetic Acid (Shynth); Anthocyanin AC 12r WSP donated by CHR HANSEN; Urucum A-720-WS-AP donated by CHR HANSEN and sheets of bleached Kraft paper, 277 g/m^2 weights supplied by Klabin. Monte Alegre/PR-Brazil.

2.2 Methods

2.2.1 Preparation of chitosan film-forming solution

The preparation of the film-forming solution was carried out by dispersing 1% chitosan (by mass) in acidic aqueous solution under continuous agitation for 60 minutes and heating to 50 ° C.

2.2.2 Preparation of chitosan film-forming solution with addition of dyes

After preparation of the fimogenic solution of chitosan, natural dyes were added in proportions of 2% (by mass), both for the addition of anthocyanin and urucum (Table 1).

Table 1. *Composition and abbreviations of chitosan film-forming solution*

Initials	Coating	(%)
CA2	Chitosan solution with anthocyanin	1.0 chitosan + 2.0 anthocyanin
CU2	Chitosan solution with urucum	1.0 chitosan + 2.0 urucum

2.2.3 Application of coatings

The application of the film-forming solution, that is, of the coatings, on the sheets of card paper was carried out with the aid of a 40.0 µm stainless steel extension bar (TKB Ericken, Brazil). The sheets of paperboard were fixed to a metal support and then 4.0 mL of film-forming solution were distributed, yielding a distribution of 0.752mL$_{solution}$/mm^2, and then the sheets of paperboard already coated were subjected to the oven drying process at 100 °C for a period equal to 90 seconds. At the end of the application process of the different types of coating, in order to facilitate the discussion of the results, the nomenclatures were determined: PU, PCA2, PCU2 (Table 2).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 2. *Composition and abbreviations of chitosan coatings*

Initials	Coating	(%)
PU	Uncoated Paper	-
PCA2	Coated paper with chitosan solution and anthocyanin	1.0 chitosan + 2.0 anthocyanin
PCU2	Coated paper with chitosan solution and urucum	1.0 chitosan + 2.0 urucum

2.2.4 Characterization of sheets of paper

The sheets of card paper were characterized as the analyzes of: thickness, weight, and barrier properties: rate water vapor permeability and water absorption (COBB method).

2.2.5 SEM - Scanning Electron Microscopy

The Scanning Electron Microscopy SEM analysis was performed at the Chemistry Institute of the Federal University of the Jequitinhonha Valleys and the Mucuri-Campus JK-Diamantina / MG. The samples were cut with a stylet of 1cm x 1cm dimensions, submitted to a gold bath and then analyzed using the Shimatzu benchtop SEM equipment.

2.2.6 Tchickness

The thickness was determined according to the NBR NM-ISO 534 (2011). A micrometer of the Lorentzen & Wettre brand was used, with contact area equal to 200 ± 10 mm^2 and pressure exerted on the sample of 100 ± 10 kPa. Five specimens of each sample were evaluated. The results were expressed as µm.

2.2.7 Grammage

The weight test was based on the methodology described in the standard ASTM D 646-96 (1997). The specimens were cut in size 130 x 130 mm with the aid of a standard device and weighed in the Mettler model AE 163 analytical balance. Ten specimens were evaluated for each sample analyzed. The results were expressed in g/m^2.

2.2.8 Barrier properties

A determinant parameter in the barrier properties is the structural characteristic of the polymer matrix. Matrices formed by simple linear polymer chains lead to increased packaging and consequently to films with low permeability, whereas polymer chains formed by bulky side groups lead to a poorly packed matrix (increase in free spaces) and an increase in permeability McHugh et al., (1994), Robertson, (1993). The barrier properties of plastic films can be varied by changing the film thickness, orientation of polymer molecules, and amount and type of additives, and by coating, lamination, and so on (Alavi *et al*., 2015). Packaging materials with sufficient barrier properties need to be used according to the shelf life and storage temperature characteristics of the specific products (Tajeddin *et al.*, 2018). On the packaging Coating is commonly used to add a thin layer of a plastic onto the surface of another plastic film or, more commonly, onto a nonplastic substrate, such as paper, cellophane, or foil.

The Coating can improve barrier properties and also helps to avoid the base material directly contacting the product, helps to impart heat sealability for plastics that are not heat sealed easily, and protects base materials, such as paper or cellophane from moisture. These coating is usually in the form of a solution, a suspension, or a melt (Tajeddin *et al.*, 2018).

2.2.8.1 Water Vapor Permeability Rate (WVPR)

The water vapor permeability rate was determined for the 23ºC / 75% RH condition by the gravimetric method, based on ASTM methodology ASTM E96-05, 96M-05 (2005). This method is based on weight gain of anhydrous calcium chloride (desiccant agent), placed inside an aluminum cap and isolated from the conditioning environment by the material whose WVPR is to be known. The effective permeation area of each specimen was 50 cm^2. The weight gain was quantified in the Mettler analytical balance, model AT 400, with a resolution of 10^{-4} g. The conditioning was done in Patra chamber. Four specimens of each sample were analyzed. The results were expressed in $g*water*m^{-2}*dia^{-1}$ and calculated according to equation 1.

$$WVPR = \frac{\Delta m}{\Delta t} \times \frac{1}{A} \qquad \text{(Eq.1)}$$

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

At where: WVPR = Water Vapor Permeability Rate to water vapor (g / m^2 *day); Δm = mass of water absorbed by hygroscopic material at time "t" (g); A = area of exposed specimen (m^2); Δt = permeation time (days).

2.2.8.2 Water Absorption (COBB)

The water absorption test was determined according to the norm ISO 535, (2014). The weight gain was monitored on an analytical balance Mettler AE 163. The results were expressed in g/m^2. This test was performed with five specimens of each sample, using the mean as the final result, calculated by equation 2.

$$Abs = (M_f - M_i) \times 100 \qquad \text{(Eq.2)}$$

At where: Abs = water absorption (g/m^2); M_i = initial mass of the specimen; M_f = final mass of the specimen.

2.2.9 Mechanical properties

The mechanical properties define the behavior of the material when subjected to external loads, its ability to resist or transmit these forces without fracture or uncontrolled deformation.

Films and coatings that have good barrier properties may be rendered inefficient if the mechanical properties do not maintain their integrity during handling, packaging, transport and commercialization Debeaufort *et al.*, (1998). According to Von Elbe, (2000), the mechanical and barrier properties of films and edible coatings are highly associated with the polarity of the constituents of the film-forming solutions. In the present study, tensile strength tests analyzes were performed according to the standard norm ASTM D774-96a (1997).

3. RESULT AND DISCUSSION

3.1 Films after drying period

As a way of illustrating the characterization of the coatings applied on the sheets of paper, after the homogenization of the chitosan filmogenic solutions containing the dyes, these were distributed in petri dishes and exposed to drying for 48hrs in a forced circulation chamber at 40ºC, Chitosan films with the addition of anthocyanin and urucum dyes, titled CA2 and CU2, respectively (Figure 1).

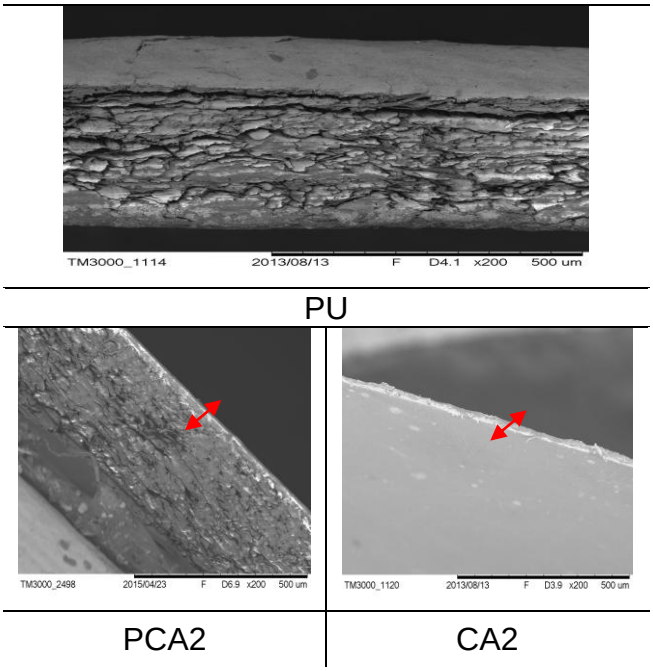


Figure 1. *Chitosan films with addition of dyes*

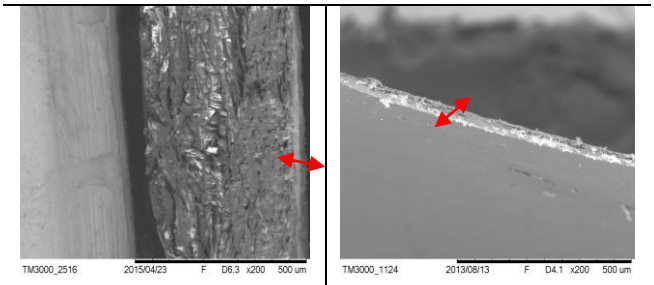
For the evaluation of the thickness of the coating applied in the packaging systems cardboard, scanning electron microscopy taken with side view and view in the interface.

3.1.1 *Scanning Electron Microscopy*

Scanning Electron Microscopy analysis offers advantages in the investigation of both rough and smooth surfaces, from flat, lateral views or to particular fractures. In the present work, lateral-view analyzes were performed on samples CA2 and CU2 (Figure 1) and on samples PU, PCA2 and PCU2 (Figure 2), both at 200-fold magnifications.



© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil



PCU2 | CU2

Figure 2. *SEM analyses side view of samples: CA2,CU2 (films) and PU, PCA2, PCU2 (Coatings).*

As shown in Figure 2, in the PU sample, it was possible to view the paper fibers more loosely, probably after the stylus sample was cut, there was a change in the uncoated paper structure. Differently, in the samples PCA2 and PCU2, it can be seen that the fibers remained grouped even after being cut with stylet.

Also in Figures PCA2 and PCU2 it was possible to visualize the coatings layer (CA2 and CU2) applied to the sheets of paper. As shown in Table 3, it is possible to observe such occurrence by the results obtained in the thickness analysis: 407μm, 416μm, 420μm corresponding to the samples PU, PCA2 and PU2, respectively.

3.1.2 Grammage and Thickness Analysis

The grammage and thickness analyzes were determined in the samples with and without coatings (Table 3), with results referring to 10 determinations. Coating application showed a statistically significant increase in paper grammage, on the order of 1.1% over uncoated paper (PU Sample). However, the type of coating did not present significant difference in the value of the grammage.

As shown in Table 3, there were no statistically significant differences between the PU, PCA2 and PCU2 samples. According to Sarantópoulos *et al.*, (2002), this test is a useful determination for evaluation and quality control, as it allows obtaining information about the performance of a packaging material. Bordenave *et al*., (2007) evaluated paper packaging systems with different weights (40 g/m^2 e 320 g/m^2) containing chitosan as a coating and observed that chitosan when applied as a coating promoted improved barrier properties.

Table 3*. Grammage and Thickness analysis results*

Samples	Average	
	Gramage (g/m^2)	Thickness (μm)
PU	282.0^{a}	407^{a}
PCA2	284.7^{b}	416^{b,c}
PCU2	284.9^{b}	420^{c}

Note: different letters (a-b) in the same column represent a significant difference ($p < 0.05$) between the means obtained by the Tukey test.

As shown in Table 3, there was an increase in thickness, of the order of 2.21% and 3.19% in the samples PQA2 and PQU2, respectively, when compared with the PU sample. According to the Tukey test, the results obtained showed that the average coat thickness increased significantly in relation to the PU sample. Comparing the coatings, only the PCA2 and PCU2 samples did not present statistically significant differences. Chitosan solution prepared by dissolving 2g chitosan in 100 ml of 2% malic acid had the highest thickness, which is resulting from the protruded structure of CR (Brodnjak, 2017). In this case, the components in blend coating solutions affected the alignment and compacting the molecules during the drying of the papers and consequently causing the differences in thickness.

The thickness is an important parameter, since this analysis is directly related to the homogeneity of the material. According to Garcia, *et al.*, (1989), little variation in thickness guarantees a uniform mechanical performance, besides minimizing irregularities in the barrier properties. Besides that, the interactions between different polymeric chains in coatings can be promot a change in a bulk. Changes in moisture and water barrier properties proved retained water in coating structure. The thickness of a paper coating has a strong influence on many properties such as tensile properties, moisture, water vapor permeability and water absorption capacity (Brodnjak, 2017). In present work as for the properties of the paper, the weight and thickness have undergone significant changes with application of the coatings.

3.2 BARRIER PROPERTIES

3.2.1 Water Vapor Permeability Rate (WVPR)

The moisture barrier is measured as the water vapor permeability rate, which is the

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

amount of water passing through a unit area of the package per unit time at a given temperature and relative humidity. The water vapor permeability rate was determined under the conditions in the papers with and without coating, 23°C / 75% RH. (Table 4).

Table 4. *Results of WVPR analysis*

Samples	WVPR ($g.água.m^{-2}.dia^{-1}$)
	Average
PU	500[a]
PCA2	307[b]
PCU2	379[c]

Note: Different letters (a-b-c) in the same column represent a significant difference (p <0.05) between the means obtained by the Tukey test.

3.2.2 Water Absorption (COBB)

The water absorption of the paper is a parameter that measures the ability of the sheet to absorb water when exposed to direct contact. According to Noletto, (2010), a low absorption value means a greater difficulty of penetration of water, preventing the loss of mechanical resistance of the material. The water absorption test was performed on the inside of the sheets of paperboard (uncoated) and on the outside of the coated and uncoated samples (Table 5).

The properties of paperboard are adversely affected by moisture, weakening the highly porous paper fibres, and consequently reducing paperboard strength. During the production of paperboard, inaccurate control of moisture content can lead to many problems. Too much moisture content could cause the softening of the paperboard leading to collapse and flute exposure after production while low moisture content could lead to the paperboard being crisp and easy to breakdown (Fadiji *et al.*, 2018). According Dang *et al*., (2018), Because of the large surface pores and high svelling potencial of the highly beaten fibers, the base paper is pronpted to absorb water.

Table 5. *Results of COBB analysis*

Samples	Water Absorption (g/m^2) Internal / External	
	Average Internal	Average External
PU	38[a]	27[a]
PCA2	36[a]	23[b]
PCU2	37[a]	19[c]

Note: different letters (a-b-c) in the same column represent a significant difference (p <0.05) between the means obtained by the Tukey test.

As Table 5 shows, the COBB analysis did not show statistically significant differences in the internal direction. However, for the analyzes carried out in the external direction, the PCA2 and PCU2 samples showed a reduction of the absorption capacity of the order of 14.81% and 29.62%, respectively, when compared with the PU sample.

In this test, no statistically significant changes in water absorption were observed, since the inner part of the analyzed samples was not coated. Thus, it can be said that the coating applied on the outside of the paper did not influence the absorption of water in the part under analysis. A significant reduction in the water absorption of the coated samples was observed. The PCA2 sample reduced water absorption capacity by 15% and the PCU2 sample showed reductions of 33 and 30%, respectively, when compared to the PU sample.

Regarding the performance between the dyes, it was observed in this test that the anthocyanin had a higher water absorption, which may be associated with the chemical structure of this, since this dye is a phenolic compound, soluble in water, contributing to the formation of hydrogen bonds with water molecules. The coatings provided a decrease in the water absorbency of the paperboard. Urucum was the dye that presented better performance in this analysis with reduction above 30% when compared to the PU sample.

3.3 MECHANICAL PROPERTIES

3.3.1 Tensile Strength (internal and external)

The tensile strength test was based on the methodology described in the standard norm ASTM D774-96a (1997). The guillotine was used

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

to obtain specimens with a width of 15.0 ± 0.1mm and 200mm in length. The assay was performed in an Instron Universal Test Machine model 5500R, using a 1kN load cell and clamp spacing speed of 20mm/min. The initial distance between the claws used was 180mm. Ten specimens from each sample were analyzed. The tensile strength was expressed in kgf /15mm. As paper is considered an anisotropic material, since fibres are aligned in the direction of travel in the papermaking machine (i.e. MD direction) and across the fibre alignment called cross-machine direction (i.e. CD direction), tests were performed in both directions (Table 6).

Table 6 - *Results of the tensile strength test (kgf/ 15mm)*

Sample	Direction	Average
PU	MD	26[a]
	CD	15[a]
PCA2	MD	27[a]
	CD	16[a]
PCU2	MD	27[a]
	CD	16[a]

MD=Machine Direction; *C*D= Cross-machine Direction.
Note: different letters (a-b-c) in the same column represent a significant difference (p <0.05) between the means obtained by the Tukey test.

When evaluating the tensile strength, the extension and the tensile energy absorption for these parameters can aid in predicting the performance of paper and paperboard, particularly when the material (paper and paperboard) is subjected to uneven stress (Fadiji *et al.*, 2018) Tensile strength at break are very important for packaging materials, due to the specific handling and shipping of the products. The reason is also in the interface of the coating materials with molecular interactions among the fibres (Khwaldia, 2013).

An increase in the mechanical properties of CNF-coated samples especially at higher coat weight compared to the uncoated samples is observed, however this improvement is not considerable. The improvement in tensile index in MD and CD is around 10% and 20% at maximum, respectively and for bending stiffness an increase about 15% at maximum in both directions (Mousavi *et al*., 2018). In the present work the addition of colors in the solution of chitosan has not affected the properties tensile strength.

4. STATISTICAL ANALYSIS

For statistical analysis, the Tukey's test was used in order to evaluate the difference between means, with significance level p <0.05.

5. CONCLUSIONS

Based on the results obtained in the analyzes of TPVA, Cobb, Weight, Thickness it was possible to conclude that natural dye based coatings are innovative developments that can be a real alternative with great potential of application and partial substitution of synthetic additives in sheets of card paper.

The PCA2 and PCU2 coatings presented visible adhesion when applied to the sheets of paper, which can be confirmed by SEM and thickness analyzes. By the formation of the layer on the sheets of paper, as well as by the increase of thickness, when compared to the sample PU.

In addition, being a system made up of natural materials, the technology adopted is environmentally and economically viable. Another perspective is to use such coatings as supporting in the development of active and intelligent packaging. However, further results are still needed, such as mechanical properties analysis.

6. ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank from LMMA sponsored by FAPEMIG (CEX-112-10), SECTES / MG and RQ-MG (FAPEMIG: CEX-RED-00010-14), for the support of ITAL - Institute of Food Technology, CETEA, LABVALE, LIPEMVALE, GEPAEQ and the company Klabin S / A.

7. REFERENCES

1. Aider, M. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry. Food Science and Technology, **2010**, 43, 837-842.
2. Alavi, S., Thomas, S., Sandeep, K.P., Kalarikkal, N., Varghese, J., Yaragalla, S. “Polymers for Packaging Applications”. Apple Academic Press, Oakville, Canadá.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

2015.

3. Albach, B., da Silva, T. A., Barbosa, R. V. Síntese do Eval-g-norbixina: Aplicação como um Pigmento em Polímeros. Rev. Virtual Quim. **2016**, 8, No. 5, 1550-1559.

4. American Society for Testing and Materials - ASTM Book of Standards, Philadelphia, PA. ASTM D646-96 - Standard test method for grammage of paper and paperboard (weight per unit area), **1997**.

5. American Society for Testing and Materials - ASTM Book of Standards, Philadelphia, PA ASTM D774-96a- Standard test method for bursting strength of paper, **1997**.

6. American Society for Testing and Materials - ASTM Book of Standards, Philadelphia, PA. ASTM E96/E 96M-05. Standard Test Methods for water vapor transmission of materials, **2005**.

7. Bordenave, N., Grelier, S., Pichavant, F., Coma, V. Water and Moisture Susceptibility of Chitosan and Paper-Based Materials: Structure–Property Relationships. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 55, **2007**, 9479-9488.

8. Brodnjak,U.V. Experimental investigation of novel curdlan/chitosan coatings on packaging paper. Progress in Organic Coatings. 112, **2017**, 86–92.

9. Choi, I., Lee, J. Y., Lacroix, M., Han, J. Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato. Food Chemistry. 218, **2017**, 122–128.

10. Tan, C., Zhang, Y., Abbas, S., Feng, B., Zhang, X. , Xia, W., Xia, S. Biopolymer–Lipid Bilayer Interaction Modulates the Physical Properties of Liposomes: Mechanism and Structure, Journal of Agricultural and Food Chemistry. 63, 32, **2015** 7277-7285.

11. Dang, C., Yin, Y., Xu, M., Pu, J. Hydrophobic noncrystalline porous starch (NCPS): Dispersed silver nanoparticles suspension as an antibacterial coating for packaging paper. BioResources. 13,1. **2018**, 192-207.

12. Demczuk, B. Jr., Ribani, R. H. Atualidades sobre a química e a utilização do urucum (Bixa orellana L.).Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos. 6,1, **2015**, 37-50.

13. Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J. A., Voilley, A. Edible films and coatings, tomorrow's packagings: A Review, Critical Reviews in Food Science. 38, **1998**, 299-313.

14. Fadiji, T., Berry, T. M., Coetzee, C. J., Opara, U. L.Mechanical design and performance testing of corrugated paperboard packaging for the postharvest handling of horticultural produce. Biosystems Engineering 171, **2018**, 220-244.

15. Fellows,P.J.Food Processing Technology: Principles and Practice. Woodhead Publishing, Cambridge, UK. **2016**.

16. Fernando,A.L., Souza, V.G. Nanoparticles in food packaging: Biodegradability and potential migration to food—A review. Food Packaging and Shelf Life. 8, **2016**, 63–70.

17. Fráguas, R. M., Simão, A. A., Faria, P. V., Queiroz, E.R.Q., Junior, E. N. O., Abreu, C. M. P. Preparo e caracterização de filmes comestíveis de quitosana. Polímeros.25, **2015**, 48-53.

18. Garcia, E.E.C; Padula, M.; Sarantópoulos, C.I.G.L.EmbalagensPlásticas:Propriedade de barreira, **1989**, 44p.

19. Ham-Pichavant , F., Sèbe, G., Pardon, P., Coma, V. Fat resistance properties of chitosan-based paper packaging for food applications. Carbohydrate Polymers, 61, **2005**, 259-265.

20. Hasler, C. M. The Changing Face of Functional Foods. Journal of the American College of Nutrition.19,5,**2000**,499S-506S.

21. ISO 535 "Paper and board". Determination of water absorptiveness-COBB method, "International Organization for Standartization, Geneva, Switzerland. **2014**.

22. ISO 534 "Paper and board". Determination of thickness, density and specific volume. **2011**.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

23. Kamel, S., El-Sakhawy, M., Nada, A.M.A. Mechanical properties of the paper sheets treated with different polymers, Thermochimica Acta. 421, **2004**, 81-85.

24. Khwaldia, K.Arab-Tehrany, E., Desobry, S. Biopolymer coatings on paper packaging materials. *Comprehensive reviews in food science and food safety.9*, **2010**, 82-92.

25. Khwaldia, K. Physical and mechanical properties of hydroxypropyl methylcellulose-Coated paper as affected by coating weight and coating composition. BioResources. 8, **2013**,338–352.

26. Kittur, F. S., Kumar, K. R., Tharanathan, R.N. Funcional packaging properties of chitosan films, Z. Lebensm Unters Forsch. 206, **1998**, 44-47.

27. Kuusipalo, J., Kaunisto, M., Laine, A., Kellomaki, M. Chitosan as a coating additive in paper and paperboard. Tappi Journal. 4, **2005**,17-21.

28. Lima, L.R.P., Oliveira, T.T., Nagem, T.J., Pinto, A.S., Stringheta, P.C., Tinco, A.L.A., Silva, J.F. Bixina, norbixina e quercetina e seus efeitos no metabolismo lipídico de coelhos. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science.38,4, **2001**,196- 200.

29. Lopes, T. J., Xavier, M. F., Quadri, M. G. N., Marintho B. Q. Anthocyanins: A brief review of structural characteristics and stability. R. Bras. Agrociência, Pelotas, 13, 3, **2007**, 291-297.

30. López, O.P., Jiménez, A.R., Vargas, F.D. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains – characteristics, biosynthesis, processing, and stability. Critical Reviews Food Science Nutrition. 40, 3, **2000**,173-289.

31. Madi, L. A embalagem no século XXI – Perspectivas e Tendências. In Brasil Pack Trends 2005: Embalagem, distribuição e consumo. CETEA/ITAL.**2000**.

32. Mangaraj, S., Goswami, T., Mahajan, P. Applications of plastic films for modified atmosphere packaging of fruits and vegetables: a review. Food Eng. Rev. 1, **2009**, 133–158.

33. Markakis, P. Stability of anthocyanins in foods". In: Markakis P (Ed) Anthocyanins in color foods. New York, Academic Press. **1982**, 163-180.

34. McHugh, T.H., Krochta, J.M. Permeability properties of edible films, in Edible Coatings to Improve Food Quality. Lancaster, Eds. J.M. Krochta, E.A. Balwin e M.O. Nisperos-Carriedo, Technomic Publishing Company, Ch.7,**1994**,139-187.

35. Medina-Flores, D., Ulloa-Urizar, G., Camere-Colarossi1, R., Caballero-García1, S., Mayta-Tovalino, F., Valle-Mendoza, J. Del. Antibacterial activity of Bixa orellana L. (achiote) against Streptococcus mutans and Streptococcus sanguinis. Asian Pac J Trop Biomed. 6, 5, **2016**,400-403.

36. Mohandas, A., Deepthi, S., Biswas, R , Jayakumar, R. Chitosan based metallic nanocomposite scaffolds as antimicrobial wound dressings. Bioactive Materials. **2018**, 267-277.

37. Mousavi, S. M. M., Afra, E., Tajvidi, M., Bousfield, D.W., Dehghani-Firouzabadi, M. Application of cellulose nanofibril (CNF) as coating on paperboard at moderate solids content and high coating speed using blade coater. Progress in Organic Coatings. 122, **2018**, 207-218.

38. Mujtaba, M., Morsi, R. E. Kerch, G., Elsabee, M. Z., Kaya, M., Labidi, J., Khawar, K. M. Current advancements in chitosan-based film production for food technology; A review. Biomac. **2018**.

39. Muzzarelli, R. A. A.,Biangini, A., Mengucci, P., MAJNI, G., TOSI, G. Chitosan-oxychitin coatings for prosthetic materials. Carbohydrate Polymers**,** 45, **2001**, 35-41.

40. Noletto, A. P. R. Embalagens de Papelão Ondulado: Propriedades e Avaliação da Qualidade. ITAL/CETEA. **2010**,62-64.

41. Nowacka, M. K. ,Rybak, A., Wiktor, A., Mika, P., Boruszewski, J., Woch, K., Przybysz, D., Witrowa-Rajchert. The quality and safety of food contact materials – paper and cardboard coated with paraffin emulsion. Food Control, **2018**.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

42. Peter, M. G. Chitin and chitosan in Fungi chitin and chitosan fron animal sources. University of Potsdam, Instituto of Organic Chemistry and Structure Analysis, Wiley-UCH, Weinheim. 6, **2002**.

43. Robertson, G. L. Optical and mechanical properties of thermoplastic polymers, in Food Packaging: Principles and Pratice. New York, Marcel Dekker. **1993**. 63-107.

44. Sarantópoulus, C. I. G. L., Regos, R. A. O Mercado de Embalagem no Brasil. (Brasil pack trends 2020). ITAL/Brasil. **2012**. 231.

45. Sarantópoulos, C.I.G.L., Oliveira, L.M., Padula, M., Coltro, L., Alves, R.M.V., Garcia, E.E.C. Embalagens plásticas flexíveis - principais polímeros e avaliação de propriedades. ITAL/CETEA, **2002**, 267.

46. Si W., Wang, W., Yan, K., Ding, F., Shi, X., Deng, H., Du, Y. Electrochemical writing on edible polysaccharide films for intelligent food Packaging. Carbohydrate Polymers. 186, **2018**. 236-242.

47. Silva, J. H. V., Silva, E. L., Jordão, F. J., Ribeiro, M. L. G., Costa, F. G. P. Resíduo da semente de urucum (*Bixa orellana L.*) como corante da gema, pele, bico e ovário de poedeiras avaliado por dois métodos analíticos. Ciência e Agrotecnologia, Lavras. 30, 5, **2006,** 988-994.

48. Tajeddin, B., Ahmadi, B., Sohrab, F., Chenarbon, H. A. Polymers for Modified Atmosphere Packaging Applications. Agricultural Engineering Research Institute (AERI), Agricultural Research, Education, and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran, Islamic Azad University, Varamin - Pishva, Iran. **2018**.

49. Von Elbe J.H. Colorantes. In: FENNEMA, O.W.Química de los alimentos.2ª.ed. Zaragoza: Wisconsin – Madison. 10, **2000**. 782-799.

50. Wieczoreck, A ., Mucha, M. Application of chitin derivatives and their composites to biodegradable paper coatings. Faculty of process and environmental engineering, Tecnhical University of Wólezanska, Poland, **1997**, 890-896.

51. Zhai, X., Shi, J., Zou, X., Wang, S., Jiang, C., Zhang, J., Huang, X., Zhang, W., Holmes, M. Novel colorimetric films based on starch/polyvinyl alcohol incorporated with roselle anthocyanins for fish freshness monitoring. Food Hydrocolloids, 69, **2017**, 308-317.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE PEROXIDASES DE VEGETAIS: UMA REVISÃO

EXTRACTION AND PURIFICATION OF VEGETABLE PEROXIDASE: A REVIEW

HAAS, Aline[1]; VAZ, Cleiton[2]; KEMPKA, Aniela Pinto[3*]

[1] Universidade do Estado de Santa Catarina, Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais, Centro de Ciências Agroveterinárias Av. Luiz de Camões, 2090, Conta Dinheiro, cep 88520-000, Lages – SC, Brasil (fone: +55 49 99156 4295)

[2] Universidade do Estado de Santa Catarina, Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química, Rua Fernando de Noronha, BR 282 Km 573, cep 89870-000, Pinhalzinho – SC, Brasil (fone: +55 49 2449 9684; fax: +55 49 2049 9593)

[3] Universidade do Estado de Santa Catarina, Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais, Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química, Rua Fernando de Noronha, BR 282 Km 573, cep 89870-000, Pinhalzinho – SC, Brasil (fone: +55 49 2049 9594; fax: +55 49 2049 9593)

** Autor correspondente*
e-mail: aniela.kempka@udesc.br

Received 10 September 2018; received in revised form 11 December 2018; accepted 13 December 2018

RESUMO

Peroxidases são enzimas que catalisam a oxidação de vários substratos, mantendo a sua atividade enzimática em amplas faixas de pHs e temperaturas. São empregadas em processos para degradação de corantes e compostos fenólicos. As peroxidases estão presentes nos tecidos de diversas plantas, e a busca por novas fontes desta enzima é necessária. Esta revisão de literatura objetiva compilar informações acerca da extração e/ou purificação de peroxidases contidas em diferentes tecidos vegetais, apresentando métodos de extração, processos de purificação, atividades enzimáticas e seus incrementos, de acordo com os processos químicos e físicos aplicados. Diversas fontes vegetais podem ser matéria-prima para a obtenção destas enzimas, através de diferentes formas de extração, onde predominam os processos de cominuição na presença de solução tampão. Para purificação parcial, são utilizadas a precipitação com solventes (acetona e etanol) e sais (sulfato de amônio) e a centrifugação. Para purificação, são utilizados processos cromatográficos, onde se destacam as cromatografias de exclusão molecular e de afinidade. Conclui-se que existe uma ampla gama de possibilidades para obtenção da enzima peroxidase de vegetais, com variabilidade na atividade enzimática quando aplicados métodos de extração distintos. Os métodos de purificação comumente utilizados levam a aumentos da atividade específica das peroxidases.

Palavras-chave: *enzima, plantas, métodos físicos e químicos, atividade enzimática.*

ABSTRACT

Peroxidases are enzymes that catalyze the oxidation of various substrates, maintaining their enzymatic activity in wide ranges of pH and temperatures. These enzymes are used in processes for the degradation of dyes and phenolic compounds. Peroxidases are present in the tissues of several plants, and the search for new sources of this enzyme is necessary. This literature review aims to compile information about the extraction and/or purification of peroxidases contained in different plant tissues, presenting extraction methods, purification processes, enzymatic activities and their increments, according to the chemical and physical processes applied. Several plant sources can be raw material to obtain these enzymes, through different forms of extraction, where the processes of comminution predominate in the presence of buffer solution. For partial purification, are used precipitation with solvents (acetone and ethanol) and salts (ammonium sulfate) and centrifugation. For purification, chromatographic processes are used, in which molecular exclusion and affinity chromatography are prominent. It is concluded that there is a wide range of possibilities for obtaining the enzyme peroxidase from

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

plants, with variability in the enzymatic activity when different extraction methods are applied. The purification methods used provide increases in the specific activity of the peroxidases.

Keywords: *enzyme, plants, physical and chemical methods, enzymatic activity.*

INTRODUÇÃO

As peroxidases (E.C.1.11) são enzimas que pertencem à classe das óxido-redutases, sendo predominantemente proteínas heme, que utilizam o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) ou outro peróxido orgânico como aceptor de elétrons para catalisar a oxidação de uma variedade de substratos orgânicos e inorgânicos (Šekuljica *et al.*, 2015). Segundo Dunford (2010) o ciclo catalítico realizado pelas peroxidases ocorre em etapas, sendo:

$$\text{Peroxidase} + H_2O_2 \rightarrow I + H_2O \quad \text{(Eq. 1)}$$

$$I + RH \rightarrow II + R^* \quad \text{(Eq. 2)}$$

$$II + RH \rightarrow \text{peroxidase} + R^* + H_2O \quad \text{(Eq. 3)}$$

Na Eq. 1, ocorre a reação entre o sítio ativo da enzima e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), com a redução deste, geração de água e formação do radical da enzima (denominado I), uma forma intermediária reativa cujo estado de oxidação é considerado mais elevado em comparação com a enzima nativa. Na Eq. 2, I oxida uma molécula de poluente (RH), gerando um poluente radical (R*) e o composto II. Finalmente, na Eq. 3, o composto II é reduzido por uma segunda molécula de substrato, gerando outro produto polimérico e fazendo com que a enzima retorne a sua forma inicial, completando assim o ciclo. O peróxido de hidrogênio em excesso na reação implica na inibição da enzima, por outro lado, a ausência do peróxido de hidrogênio durante a reação limita a sua velocidade (Dunford, 2010; Hofrichter *et al.*, 2010).

Durante a reação, os radicais livres formados deslocam-se do sítio ativo da enzima para o meio da solução. Estes radicais são altamente reativos e produzem espontaneamente uma reação, formando polímeros insolúveis que podem ser removidos por técnicas de filtração ou sedimentação simples (Regalado *et al.*, 2004).

A peroxidase extraída de plantas superiores é uma glicoproteína que se difere na composição de seus aminoácidos e carboidratos, contendo como grupamento prostético, a ferriprotoporfirina III (Roling *et al.*, 2000). São enzimas solúveis em água e, por isso, são facilmente extraídas homogeneizando a fonte de enzima com água e filtrando o homogeneizado. O filtrado obtido é uma fonte de enzima de baixa pureza que pode ser utilizado diretamente ou pode ser tratado para remover parte das impurezas antes da sua utilização (Reed, 1975).

As peroxidases estão amplamente encontradas em animais, plantas e micro-organismos (Chiong *et al.*, 2016) e podem ser classificadas em três classes com base em homologia de aminoácidos e capacidades de ligação de metal. A classe I compreende as peroxidases intracelulares, a classe II compreende as enzimas fúngicas secretoras e a classe III consiste na peroxidase de plantas secretoras (Gui *et al.*, 2006). Neste sentido este trabalho de revisão de literatura tem como objetivo reunir informações de pesquisas sobre os métodos de extração, purificação, atividades enzimáticas e incremento de atividade de peroxidases obtidas a partir de diferentes tecidos vegetais.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Delineamento do estudo

O Delineamento do estudo baseou-se em uma revisão bibliográfica narrativa, realizada em livros e em base de dados eletrônicas, buscando-se capítulos com o tema específico, artigos científicos, dissertações e teses. As línguas utilizadas na pesquisa foram português e inglês, sendo os termos delimitados em: 1 - *Peroxidase extraction*; 2 - *Peroxidase purification*; 3 - Extração Peroxidase; 4 - Purificação peroxidase; 5 - *Enzyme purification*; 6 - *Enzyme extraction*; 7 – Extração enzima; 8 – Purificação enzima.

2.2. Critérios de inclusão e exclusão de referências

Os estudos que foram incluídos na revisão foram os que apresentaram dados relevantes sobre métodos de extração de peroxidases de tecidos vegetais e atividades obtidas e purificação parcial ou purificação da peroxidase, com descrição de métodos e incrementos nas atividades, com 90% das publicações a partir do ano 2000. Estudos que

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

não atenderam o tempo cronológico, mas que apresentaram dados relevantes, foram incluídos no limite de 10% de referências cujo ano de publicação foi anterior a 2000. Peroxidases produzidas por microrganismos foram excluídas do resumo.

2.3. Fontes de informação

Os livros foram retirados da biblioteca do Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química da Universidade do Estado de Santa Catarina. Os artigos foram acessados nas seguintes bases de dados: ScienceDirect (Elsevier) e Scielo (Scientific Eletronic Library Online), Google Acadêmico e Bancos de Teses e Dissertações de Universidades Públicas. Os termos foram pesquisados separadamente como descritos no item 2.1.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Peroxidases de vegetais

As peroxidases são encontradas em diversas espécies do reino vegetal, e a mais importante, do ponto de vista comercial, é a enzima isolada da raiz forte (*Armoracia rusticana*) também conhecida como raiz ardida, rábano de cavalo ou rábano rusticana, na forma purificada (Horseradish peroxidase - HRP). A raiz forte é geralmente cultivada e colhida em países de clima frio (Maciel *et al.*, 2007). Cooper e Nicell (1996) verificaram uma atividade específica da HRP purificada de 83,0 $\pm$ 4,5 U.mg^{-1}. A atividade enzimática de 29,85 U.mL^{-1} para HRP foi obtida por Souza *et al.* (2007), sendo empregado como substrato enzimático a siringalzida.

Nos últimos anos, novas fontes de peroxidases estão sendo estudadas, para atender à crescente demanda por esta enzima, que pode ser encontrada em uma série de espécies do reino vegetal e em diversas partes destas espécies como cascas, folhas, frutos e raízes. A obtenção da enzima peroxidase da casca da soja está sendo estudada por diversos pesquisadores. Chagas *et al.* (2015) determinaram a atividade enzimática para a peroxidase, livre e imobilizada em pérolas de quitosana reticulada, extraída da casca da soja, obtendo atividade enzimática para a enzima livre e uma atividade específica para a enzima imobilizada de 31,01 U.mL^{-1} e 2,51 U.mg^{-1}, respectivamente, sendo utilizado como substrato enzimático o guaiacol (97% v.v^{-1}). O mesmo substrato foi utilizado por Silva *et al.* (2013) para determinar a atividade enzimática da peroxidase extraída da casca da soja, obtendo 31,87 U.mL^{-1} de atividade enzimática. Em contraponto, Chiong *et al.* (2016) caracterizaram a enzima obtida da casca da soja e do fruto da Luffa, utilizando o guaiacol como substrato enzimático para determinar a atividade, e obtiveram resultados inferiores aos demais autores, sendo a atividade de 0,373 U.mL^{-1} e 0,355 U.mL^{-1}, respectivamente. Os substratos 4-aminoantipirina e fenol foram empregados por Ghaemmaghami *et al.* (2010) para determinar a atividade enzimática da peroxidase de casca da soja e de flocos da soja, sendo obtidas atividades enzimáticas de 52,6 U.mL^{-1} e 17,3 U.mL^{-1} , respectivamente.

A peroxidase também é encontrada nos tecidos vegetais como no bulbo do alho (*Allium sativum*), tubérculo da batata doce (*Ipomoea batatas*), tubérculo do rabanete (*Raphanus sativus*) e na semente do sorgo bicolor (*Sorghum* bicolor). Diao *et al.* (2011) determinaram a atividade enzimática do extrato bruto destes vegetais, monitorando o tetraguaiacol formado na reação enzimática devido a oxidação do substrato guaiacol. As quatros espécies apresentaram diferentes níveis de atividade enzimática específica, variando de 22,1 a 294,6 U.mg^{-1}. O tecido vegetal que apresentou uma atividade específica mais elevada foi o tubérculo do rabanete, seguido da semente do sorgo e do tubérculo da batata doce, o bulbo do alho mostrou-se significativamente inferior as outras três espécies.

Kurnik *et al.* (2015) determinaram a atividade enzimática em diferentes massas da polpa da batata com o objetivo de verificar a relação do aumento da massa do tecido vegetal e a formação do produto *purpurogallin*, gerado na reação enzimática utilizando o pirogalol como substrato enzimático. As massas de polpa de batata utilizadas para obter o extrato enzimático foram de 5, 10, 20, 40 e 60 mg e a atividade da peroxidase da polpa da batata variou de 0,3 a 2,0 µmol de *purpurogallin.*min^{-1}, apresentando um aumento progressivo da produção de *purpurogallin* com o aumento da massa utilizada.

Outra fonte de enzima vegetal mencionada na literatura é a raíz do nabo (*Brassica campestre* ssp. Rapifera), Silva *et al.* (2012) determinaram a atividade enzimática do extrato parcialmente purificado, observando a

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

sua capacidade de oxidar o guaiacol em tetraguaiacol na presença de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), obtendo uma atividade enzimática de 17,5 $U.mL^{-1}$.

As folhas da copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf) apresentaram potencial para obtenção da enzima peroxidase, como demonstrado no estudo de Maciel *et al.* (2007), que obtiveram uma atividade para o extrato bruto de 65.10^3 $U.mL^{-1}$ sendo utilizado o guaiacol como substrato enzimático. Cai *et al.* (2012) avaliaram a afinidade da enzima peroxidase obtida do pinhão manso (*Jatropha curcas*) pelos substratos guaiacol, o-fenilenodianoamina, o-dianisidina, ABTS, pirogalol e ácido ferúlico, sendo obtidas atividades específicas de 24800, 24600, 19100, 16300, 6070, 4800 ($mol.min^{-1}.mg^{-1}$), respectivamente, sugerindo uma ampla especificidade de substratos para a enzima proveniente do pinhão manso. As folhas do capim Mombaça (*Megathyrsus maximus*) foram estudas por Centeno *et al.* (2017) como fonte da enzima peroxidase, apresentando uma atividade enzimática do extrato purificado de 263 $U.mg^{-1}$, utilizando o guaiacol como substrato.

A atividade específica do extrato purificado do melão amargo (*Momordica charantia*) foi determinada através da oxidação do substrato o-dianisidina-HCl na presença de H_2O_2, apresentando uma atividade de 99 $U.mg^{-1}$ (Akhtar *et al.*, 2005). A gramínea *Echinolaena inflexa* pode ser considerada como uma fonte alternativa para obtenção da enzima peroxidase de tecidos vegetais. Ramalho *et al.* (2015) obtiveram uma atividade específica de 6.250 $U.g^{-1}$ para a peroxidase proveniente da farinha dos frutos da gramínea, utilizando como substrato o pirogalol na presença de H_2O_2.

3.2. Métodos para extração de peroxidases de tecidos vegetais

Para a obtenção de peroxidases de tecidos vegetais, é necessária a realização do rompimento da parede celular em meio líquido, sendo utilizados, para tanto, métodos físicos, químicos e enzimáticos. A parede celular é uma característica intrínseca as células vegetais, sendo responsável pela resistência mecânica das estruturas vegetais, promoção da junção das células, controlando a forma e permitindo altas pressões de turgor e proteção contra agressões físicas e químicas (Paiva *et al.*, 2009). As células dos tecidos vegetais são rodeadas por paredes celulares, sendo elas fisicamente rígidas, fornecendo suporte mecânico aos diferentes tecidos. Nas plantas superiores, a parede celular é formada por três camadas denominadas lamela média, parede primária e parede secundária, sendo que a sua composição química e a estrutura física variam entre espécies e cultivares (Fernandes e Rodrigues, 2011).

Os métodos de rompimento celular podem ser classificados em quatro classes: mecânicos (homogeneizador de alta pressão, moinho de bolas, prensa francesa e ultrassom); não mecânicos ou físicos (choque osmótico, congelamento e descongelamento, aquecimento, secagem); químicos (álcalis, solventes, detergentes, ácidos) e enzimáticos (lize enzimática ou inibição da síntese da parede celular). Para a escolha da técnica de rompimento celular devem ser considerados fatores como, tamanho da célula, tolerância a tensões de cisalhamento, necessidade de controle de temperatura, tempo de operação e rendimento do processo (Pessoa Junior e Kilikian, 2005).

Variáveis como tempo de extração, pH, tipo de solvente, tipo de enzima usada na maceração, potência de sonicação, dentre outros, também são objeto de estudo dos pesquisadores para maximizar a extração das peroxidases. Ramalho *et al.* (2015) avaliaram o efeito combinado entre o pH e o tempo de extração sobre a atividade de peroxidase de *Echinolaena inflexa*, uma gramínea nativa do cerrado brasileiro, utilizando tampões fosfato de sódio (0,1 $mol.L^{-1}$) e borato de sódio (0,1 $mol.L^{-1}$) como fase líquida para extração da enzima. Os pesquisadores obtiveram uma atividade enzimática elevada quando utilizados os tampões pHs 7,5 a 8,5 e, por esta razão, o pH 8,0 foi considerado como ótimo, associado ao tempo de 60 minutos de extração.

Somtürk *et al.* (2014) realizaram a extração da enzima peroxidase das raízes do repolho roxo (*Brassica oleracea* var. Capitata f. rubra) com a adição de nitrogênio líquido e homogeneização em almofariz, seguida da adição de 50 mL de fosfato monopotássico 0,3 M (pH 7,0). A mistura foi centrifugada a 9.000 rpm por 60 min à 4°C e o extrato bruto armazenado a -20°C, sendo obtida uma atividade enzimática de 24,72 $U.mL^{-1}$.

Duas diferentes formas de extração da peroxidase foram estudas por Ghaemmaghami *et al.* (2010) e consistiram em embeber as cascas da soja em tampão fosfato de sódio (pH 6,0)

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

durante 24 horas (método 1) e em tampão fosfato de sódio (pH 8,0) durante 22 horas (método 2). A atividade enzimática foi avaliada para os dois métodos, sendo obtidos valores de 52,6 $U.mL^{-1}$ e 17,3 $U.mL^{-1}$, respectivamente, sendo escolhido o método 1 como o melhor método de extração da enzima e utilizado na sequência do estudo.

A extração de peroxidase através da homogeneização em tampões também foi reportada em estudos com casca de nabo (*Brassica campestre*) (Silva *et al.*, 2012), folhas de capim-colonião (*Panicum maximum*) (Centeno *et al.*, 2017), alho (*Allium sativum*) (Diao *et al.*, 2011), carambola (*Oxalidacia averrhoa)* (Laurenti e Clemente, 2005), guariroba (*Syagrus oleracea* Becc) (Carneiro *et al.*, 2003), girassol (*Helianthus annuus*) (Jha *et al.*, 2013), casca de Luffa (*Luffa acutangula*) (Chiong *et al.*, 2016), batata doce (*Ipomoea batatas*) (Zeraik *et al.*, 2008) e pimenta amarela (*Capsicum annuum*) (Jiang e Penner, 2015).

As Tabelas 1 e 2 mostram os diferentes vegetais de onde foram extraídas peroxidases, o substrato utilizado na determinação da atividade e as etapas utilizadas para a extração.

3.3. Métodos para purificação peroxidases vegetais

A purificação é uma etapa que proporciona uma melhor eficiência da enzima em seu papel catalítico. Existem diversos métodos de fracionamento para que ela seja purificada, como a precipitação por adição de sais neutros ou solventes orgânicos, além da purificação cromatográfica através da cromatografia de troca iônica, cromatografia de exclusão molecular e a cromatografia de afinidade (Al-Senaidy e Ismael, 2011; Kumar *et al.*, 2011; Kalin *et al.*, 2014; Rusdi *et al.*, 2014).

A designação do processo de purificação depende da aplicação final da molécula-alvo, suas características físico-químicas, bem como a das impurezas, pois há produtos cuja aplicação não necessita de um elevado grau de pureza, portanto operações cromatográficas não são necessárias, entretanto há produtos, como as enzimas, que requerem maior grau de pureza, de modo que o processo de purificação escolhido seja de complexidade elevada (Pessoa Junior e Kilikian, 2005).

A precipitação de proteínas por adição de sais remove a camada de hidratação das proteínas, devido a competição dos íons salinos com a proteína pelas moléculas de água, sendo favorecida a agregação e a precipitação dos resíduos hidrofóbicos (Ghosh, 2006).

Segundo Pessoa Junior e Kilikian (2005), o sal mais comumente utilizado para esta técnica é o sulfato de amônio, pois apresenta características importantes como alta solubilidade em água, baixa densidade, além de apresentar como vantagem a ação estabilizante sobre as proteínas. Uma solução saturada de sulfato de amônio corresponde a cerca de 4,05 M (533 g. L^{-1} a 20°C) e a densidade de 1,235 $g.cm^{-3}$.

A precipitação da peroxidase extraída do alho (*Allium sativum*) utilizando sulfato de amônio foi estudada por Osuji *et al.* (2014). O extrato bruto foi saturado com sulfato de amônio, sendo realizada, em seguida, diálise durante 18 h, e o dialisado aplicado em uma coluna cromatográfica de filtração de gel. A atividade da peroxidase aumentou simultaneamente com a aplicação de diferentes etapas de purificação, sendo os valores de atividade enzimática para o extrato bruto, do extrato que passou por precipitação com sulfato de amônio, do extrato que passou por precipitação e diálise e do extrato que passou por precipitação, diálise e cromatografia em gel de 4,094 $U.mg^{-1}$, 4,886 $U.mg^{-1}$, 15,766 $U.mg^{-1}$ e 25,256 $U.mg^{-1}$, respectivamente.

Rathnamsamy *et al.* (2014) estudaram a aplicação do sulfato de amônio na purificação de peroxidases provenientes de rabanete, tomate, nabo e repolho. No processo de precipitação, nenhum precipitado foi observado quando utilizado de 0 a 20% de saturação, porém, a peroxidase começou a precipitar a partir de 30% de saturação, alcançando atividade específica máxima em 80% de saturação para todas as fontes vegetais. A utilização do sulfato de amônio para a purificação da peroxidase de tecidos vegetais também foi reportada em estudos com a casca da tangerina (*Citrus reticulata*) (Nouren *et. al.*, 2013), folhas de rabanete (*Raphanus sativus)* (Bhatti *et al.*, 2012), cascas de limão (*Citrus limon)* (Nouren e Bhatti, 2015), broto de bambu (*Bambusa. oldhamii*) (Hsu *et al.*, 2012) e batata verde (*Trichosanthes dioica)* (Jamal *et al.*, 2010).

A acetona, o etanol e o metanol são os solventes mais utilizados para a purificação de enzimas (Biazus *et al.*, 2010). Silva *et al.* (2012) realizaram a purificação do extrato enzimático da casca do nabo (*Brassica campestre)* utilizando a acetona como solvente orgânico e a peroxidase

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

purificada mostrou-se eficiente na remoção da cor de importantes corantes industriais em fase aquosa. A purificação da enzima proveniente das folhas de *Copaifera langsdorffii* Desf., popularmente conhecida como Copaíba, foi realizada utilizando o etanol, acetona e sulfato de amônio como agentes precipitantes. O sulfato de amônio foi o agente precipitante mais eficiente, mas a acetona foi escolhida como agente precipitante por ser mais eficiente que o etanol e apresentar eficiência semelhante à do sulfato de amônio (MacieL *et al*., 2007).

A cromatografia tem como finalidade isolar e purificar o metabólito de interesse em relação aos demais, levando-o à pureza adequada a seu uso e pode ser dividida em dois grandes grupos: líquida e gasosa, sendo a cromatografia líquida a de interesse as purificações de metabolitos celulares (Pessoa Junior e Kilikian, 2005). A cromatografia por troca-iônica se baseia no princípio da reversibilidade das atrações eletrostáticas de uma molécula carregada em relação a uma matriz sólida com grupos com cargas opostas e ligados covalentemente à matriz (Levison, 2003).

Segundo Bjurstrom (1985), a cromatografia de exclusão é uma técnica que separa proteínas moleculares com base no tamanho utilizando o princípio de que pequenas moléculas irão penetrar a estrutura porosa do meio gel em maior extensão do que moléculas maiores, tendo desta forma um tempo de retenção mais longo. É possível também utilizá-la para estimar o tamanho de uma proteína que está sendo purificada (Nelson e Cox, 2014).

A cromatografia de afinidade é uma técnica de separação que depende das interações altamente específicas, onde os grânulos na coluna que têm um grupo químico covalentemente ligado chamado de ligante – um grupo ou molécula que se liga a uma macromolécula, tal como uma proteína. Quando uma mistura de proteínas é adicionada à coluna, qualquer proteína com afinidade para esse ligante se liga aos grânulos, e sua migração através da matriz é retardada (Nelson e Cox, 2014).

Johri *et al.* (2005) reportaram a utilização das técnicas de cromatografia de troca-iônica, interação hidrofóbica e de afinidade para a purificação da peroxidase obtida a partir das raízes da cereja de inverno (*Withania somnifera)*. A enzima a ser purificada foi aplicada primeiramente em uma coluna de DEAE–*Sepharose* (cromatografia de troca-iônica) em seguida em uma coluna cromatográfica de interação hidrofóbica contendo *Phenyl–Sepharose*, em sequência, as frações contendo atividade foram agrupadas e aplicadas na coluna de cromatografia de afinidade contendo *concanavalin* A (ConA– *Sepharose*), obtendo-se um incremento na atividade específica de 1,91; 20,29 e 142,55 vezes, respectivamente, em relação a atividade específica bruta.

A purificação da peroxidase obtida do caule macio de uma leguminosa arbórea conhecida popularmente como Leucena (*Leucaena leucocephala*) foi realizada através da aplicação das técnicas de precipitação por adição de sais e cromatografia, onde o uso de 50% de sulfato de amônio apresentou um incremento de 3,69 vezes na atividade específica em relação ao extrato bruto. A cromatografia de troca-iônica, utilizando com resina o *dietilaminoetilcelulose* (*DEAE*- C), levou a um incremento de 8,64 vezes na atividade específica em relação ao extrato bruto, a cromatografia com a coluna de *Sephadex* G-200, levou a um aumento de 46,2 vezes na atividade específica em relação ao extrato bruto e a cromatografia de afinidade com *Concanavalin* A (ConA–*Sepharose*) levou a um aumento de 89,3 vezes na atividade específica em relação ao extrato bruto (Pandey e Dwivedi, 2011).

O emprego das técnicas de precipitação com sulfato de amônio e a cromatografia por afinidade para precipitação da peroxidase das folhas da árvore Neem (*Azadirachta indica*) também foram relatadas por Pandey *et al.* (2017). A saturação de 80-100% de sulfato de amônio apresentou um aumento de 2,35 vezes na atividade específica, em relação ao extrato bruto, e com a aplicação na coluna de ConA–*Sepharose* houve um incremento de 16,8 vezes na atividade específica em relação ao extrato bruto.

A aplicação das técnicas combinadas de precipitação com sulfato de amônio e a cromatografia de exclusão foram estudas por Mall *et al.* (2013) para a precipitação da peroxidase das folhas da cidra (*Citrus medica*), sendo obtido um incremento de 6,22 e 15,10 vezes na atividade específica em relação ao extrato bruto.

As Tabelas 3 e 4 mostram diferentes vegetais de onde foram extraídas peroxidases, etapas utilizadas na purificação das enzimas e o incremento na atividade específica em relação ao

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

extrato bruto.

CONCLUSÕES

A partir deste estudo, foi verificada a existência de uma ampla gama de possibilidades para obtenção da enzima peroxidase proveniente de tecidos vegetais, mas ocorre grande variabilidade na atividade enzimática das peroxidases obtidas, até mesmo, de uma mesma planta, quando aplicados métodos de extração distintos. Os métodos de purificação parcial comumente utilizados levam a aumentos da atividade específica das peroxidases, que, para alguns casos já é satisfatório. Os métodos de purificação incluem processos de maior complexidade, mas que aumentam ainda mais a pureza do extrato, com melhora significativa na eficiência catalítica da enzima. A literatura é vasta em metodologias de extração e purificação parcial ou total das peroxidases, podendo cada metodologia ser adequada dependendo do tecido vegetal utilizado como meio de extração.

REFERÊNCIAS

1. Adewale, I.O., Adekunle, A.T. *Biocatal Agric Biotechnol*, **2018**, *14,*1.
2. Akhtar, S., Khan, A.A., Husain, Q. *Bioresour Technol*, **2005**, *96* (16), 1804.
3. Al-Senaidy, A.M., Ismael, M.A. *Saudi J Biol Sci.,***2011***, 18*(3), 293.
4. Bhatti, H.N., Kalsoom, U., Habib, A. *J Chem Soc Pakistan*, **2012**, *34*(2), 257.
5. Biazus, J.P.M., Santana, J.C.C., Souza, R.R., Tambourgi, E.B. *Ciênc Tecnol Aliment*, **2010**, *30*(1), 218.
6. Bjurstrom, E. *Chem. Eng*. **1985**, *92*(4), 126.
7. Boucherit, N., Abouseoud, M., Adour, L. *J Environ* Sci *(China)*, **2013**, *25*(6), 1235.
8. Cai, F., Ouyang, C, Duan, P., Gao, S., Xu, Y., Chen, F. *J Mol Catal B Enzym,* **2012**, 77, 59.
9. Carneiro, C.E.A., Rolim, H.M.V., Fernandes, K.F. *Acta Sci Biol Sci*, **2003**, *25*(1), 189.
10. Centeno, D.A., Solano, X.H., Castilho, J.J. *Bioelectrochemistry*, **2017**, 116, 33.
11. Chagas, P.M.B., Torres, J.A., Silva, M.C., Corrêa, A.D. *Int J Biol Macromol,* **2015**, 81, 568.
12. Chiong, T., Lau, S.Y., Lek, Z.H., Koh, B.Y., Danquah, M.K. *J Environ Chem Eng*, **2016**, *4*(2), 2500.
13. Cooper, V.A., Nicell, J.A. *Water Res*, **1996**, 30(4), 954.
14. Diao, M., Ouédraogo, N., Baba-Moussa, L., Savadogo, P.W., N'Guessan, A.G., Bassolé, I.H., Dicko, M.H. *Biodegradation*, **2011**, *22* (2), 389.
15. Dunford, H. B. Peroxidases and catalases: biochemistry, biophysics, biotechnology and physiology. 2. ed, Wiley: New York, 2010.
16. Fernandes, F.A.N., Rodrigues, S., Law, C.L., Mujumdar, A.S. *Food Bioprocess Tech*, **2011**, *4*(2), 163.
17. Freitas, A.A., Francelin, M.F., Hirata, G.F., Clemente, E.; Schmidt, F.L. *Food Sci Technol*, **2008**, *28*(1), 172-177.
18. Fricks, A.T., Souza, D.P.B., Oestreicher, E.G., Antunes, O.A.C., Girardi, J.S., Oliveira, D., Dariva, C. *J Supercrit Fluids*, **2006**, *38*(3), 347–353.
19. Fritzen-Garcia, M.B., Oliveira, I.R.W.Z., Zanetti-Ramos, B.G., Fatibello-Filho, O., Soldi, V., Pasa, A.A., Creczynski-Pasa, T.B. *Sens. Actuator B-Chem.,* **2009**, *139*(2), 570.
20. Galende, P.P., Cuadrado, N.H., Arellano, J.B., Gavilanes, F., Kostetsky, E.Y., Zhadan, G.G., Villar, E., Roig, M.G., Kennedy, J.F., Shnvrov, V.L. *Int J Biol Macromol*, **2015**, 72, 718.
21. Ghaemmaghami, F., Alemzadeh, I., Motamed, S. *Iranian Journal of Chemical Engineering*, **2010**, *7*(2), 28- 38.
22. Ghosh, R. Principles of bioseparations engineering. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd: Canada, 2006.
23. Gong, Z., Li, D., Liu, C., Cheng, A., Wang, W. *LWT-Food Sci Technol***.**, **2015**, *60*(2), 1095.
24. Gui, F., Chen, F., Wu, J., Wang, Z., Liao, X., Hu, X. *Food Chem***, 2006**, *97*(3), 480.
25. Hofrichter, M., Ullrich, R., Pecyna, M.J., Liers, C., Lundell, T. *Appli Microbiol*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Biotechnol, **2010**, *87*(3), 871-897.

26. Hsu, S-K., Chung, Y-C., Chang, C-T., Sung, H-Y. *Int J Food SciTechnol*, **2012**, *47*, 1.
27. Hu, Y., Wu, J., Luo, P., Mo, Y. *Afr J Biotechnol*, **2012**, *11*(11), 2752.
28. Jamal, F., Pandey, P.K., Qidwai, T. *J Mol Catal B Enzym, **2010**, 66*(1-2), 177.
29. Jha, P., Jobby, R., Kudale, S., Modi, N., Dhaneshwar, A., Desai, N. *Int Biodeterior Biodegradation*, **2013**, *77*, 106.
30. Jiang, S., Penner, M.H. *Anal. Biochem.*, **2015**, *476*, 20.
31. Johri, S., Jamwal, U., Rasool, S., Kumar, A., Verma, V., Qazi, N.G. *Plant Sci.*, **2005**, *169*(6), 1014.
32. Kalin, R., Atasever, A., Ozdemir, H. *Food Chem.*, **2014**, *150*, 335.
33. Kumar, R., Singh, K.A., Sing, V.K., Jagannadham, M.V. *Process Biochem.,* **2011***, 46*(6), 1350.
34. Kurnik, K., Treder, K., Skorupa-Klaput, M., Tretyn, A., Tyburski, J. *Water Air Soil Pollut,* **2015**, *226*(8), 254.
35. Laurenti, C., Clemente, E. *Acta* Sci. Agron., **2005**, *27*(1),159.
36. Levison, P.R*. J. Chromatogr. B*, **2003**, *790*(1-2), 17.
37. Maciel, H.P.F., Gouvêa, C.M.C.P., Pastore, G.M. *Ciênc. Tecnol Aliment.*, **2007**, *27*(2), 221.
38. Mall, R., Naik, G., Mina, U., Mishra, S.K. *Prep Biochem Biotechnol,* **2013**, *43*(2), 137.
39. Márquez, O., Waliszewski, K. N., Oliart, R.M., Pardio, V.T. *LWT-Food Sci Technol*, **2008**, *41*(8), 1372.
40. Nelson, D.L.; Cox, M.M. Princípios de bioquímica de Lehninger, 6 ed., Artmed: Porto Alegre, 2014.
41. Nouren, S., Bhatti, H.N. *Biochem Eng J.*, **2015**, *95*, 9.
42. Nouren, S., Bhatti, H.N., Bhatti, I.A., Asgher, M. *J. Anim*. *Plant Sci*., **2013**, *23*(2), 430.
43. Osuji, A.C., Eze, S.O.O., Osayi, E.E., Chilaka, F.C. *ScientificWorldJournal*, **2014**, 2014, 1.
44. Paiva, E.P., Lima, M.S., Paixão, J.A. *Rev Iberoam Polim*, **2009**, *10*(4), 196.
45. Pandey, V.P., Dwivedi, U.N. *J Mol Catal B Enzym*, **2011**, *68*(2), 168.
46. Pandey, V.P., Rani, J., Jaiswal, N., Singh, S., Awasthi, M., Shasany, A.K., Tiwari, S., Dwivedi, U.N. *Int J Biol Macromol*, **2017**, 104b, 1713.
47. Pessoa Junior, A., Kilikian, B.V. Purificação de produtos biotecnológicos. Manole: Barueri, SP, 2005.
48. Ponce, A.G., Del Valle, C.E., Roura, S.I. *LWT-Food Sci Technol*, **2004**, *37*(2), 199.
49. Ramalho, R.P.R.S., Scalize, P.S., Caramori, S.S. *Rev. Ambient. Água*, **2015**, *10*(4), 50.
50. Rathnamsamy, S., Singh, R., Auxilia, R., Vedhahari, B.N. *Biotechnol Ind J.,* **2014**, *9*(4), 160.
51. Reed, G. Enzymes in food processing**:** a series of monographs. New York Academic, 1975.
52. Regalado, C., Garcia-Almendarez, B., Duarte-Vasquez, M.A. *Phytochem Rev*, **2004**, *3*(1-2), 243.
53. Roling, M.S., Moura, V.M., Clemente, E. *Acta Sci Agron*, **2000**, *22*(5), 1157.
54. Rusdi, B., Mulyanti, D., Rodiyah, M. *Procedia Chem*, **2014**, 13, 170.
55. Šekuljica, N.Z., Prlainović, N.Z., Stefanović, A.B., Žuža, M.G., Čičkarić, D.Z., Mijin, D.Z., Knežević-Jugović, Z.D. *ScientificWorldJournal*, **2015**, 2015, 1.
56. Silva, M.C., Correa, A.D., Torres, J.A., Amorim, M.T.S.P. *Quim Nova*, **2012**, *35*(5), 889.
57. Silva, M.C., Torres, J.A., Sá, L.R.V. de, Chagas, P.M.B., Ferreira-Leitão, V.S., Corrêa, A.D. *J Mol Catal B Enzym,* **2013**, 89,122.
58. Somtürk, B., Kalin, R., Özdemir, N. *Appl Biochem Biotechnol*, **2014**, *173(*7), 1815.
59. Souza, S.M.A.G.U. de, Forgiarini, E., Souza, A.A.U. de. *J Hazard Mat*, **2007**, *147*(3), 1073.
60. Srinivas, N.D., Rashmi, K.R.,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Raghavarao, K.S.M.S. *Process Biochem*, **1999**, *35*(1-2), 43.

61. Steevensz, A., Madur, S., Feng, W., Taylor, K.E., Bewtra, J.K., Biswas, N. *Enzyme Microb Technol*, **2014**, *55*(5), 65.
62. Zeraik, A.E., Souza, F.S. de; Fatibelo-Filho, O., Leite, O.D. *Quim Nova*, **2008**, *31*(4), 731.

Tabela 1. *Vegetal ou parte da planta utilizada na extração, substratos e atividades das peroxidases.*

Vegetal / parte de onde foi extraída a enzima	Substrato / atividade*	Referência
Soja (*Glycine max*)(casca) Luffa (*Luffa acutangula*) (fruto)	Guaiacol / 0,373 U.mL $^{-1}$ e 0,355 U.mL^{-1}, respectivamente.	Chiong *et al.*, 2016
Soja (*Glycine max*) (casca)	Guaiacol / 31.01 U.mL^{-1}	Chagas *et al*., 2015
Soja (*Glycine max*) (casca de 65 variedades)	Fenol e 4-aminoantipirina / 68,1 U.g^{-1} e 62,2 U.g^{-1}	Steevensz *et al*., 2014.
Guariroba (*Syagrus oleracea* Becc) (hastes divididas em cabeça e coração)	Guaiacol / 730,3 UE.g^{-1} para a cabeça e 464 UE.g^{-1} para o coração	Carneiro *et al*., 2003.
Uva (*Vitis vinifera L.)* variedades Benitaka e Rubi (fruto)	o-dianisidina 1% em metanol / 2,63 U.min^{-1}.ml^{-1} para peroxidase solúvel e 2,97 U. min^{-1}.ml^{-1} para a peroxidase ionicamente ligada - Benika 2,65 U.min^{-1}.ml^{-1} para peroxidase solúvel e 2,83 U. min^{-1}.ml^{-1} para a peroxidase ionicamente ligada – Rubi	Freitas *et al*., 2008.
Baunilha (*Vanilla planifolia*) (fava)	Guaiacol / 8714,8x10^{3} U.mg^{-1}	Márquez *et al*., 2008.
Rabanete (*Raphanus sativus* L.) (raiz)	Guaiacol/ 46,2 U.mL^{-1}	Fricks *et al*., 2006.
Cola nítida (frutos das variedades branca e vermelha) *e Cola acuminata* (fruto)	o-dianisidina (0,025Mm)/ *Cola nítida* variedade branca - A e B sem atividade, C: 52,0±4,0 U.mg^{-1}; *Cola nítida* variedade vermelha: A sem atividade, B 2,0±0,01 U.mg^{-1} e C 50,0±0,001 U.mg^{-1} *Cola acuminata:* A sem atividade, B 1,63±0,01 U.mg^{-1}, 0,35±0,15 U.mg^{-1}	Adewale e Adekunle, 2018.
Acelga *(Beta vulgaris*), espinafre (*Spinacia oleracea*), alface romana (*Lactuca sativa* var longifolia), alface manteiga (*Lactuca sativa*), repolho (*Brassica oleracea* var. capitata) (folhas)	Guaiacol / acelga: 1258,38 U.min^{-1}.g^{-1}, espinafre: 1745,87 U.min^{-1}.g^{-1}, alface romana: 1014,53 U.min^{-1}.g^{-1}, alface manteiga 2175,86 U.min^{-1}.g^{-1}, repolho = 3175 U.min^{-1}.g^{-1}	Ponce *et al*., 2004.
Caqui (*Diospyros kaki* L.), carambola (*Averrhoa carambola* L.), inhame (*Dioscorea sp.*), açafrão (*Crocus sativus* L.), yacon (*Smallanthus sonchifolius*), feijão de ervilha (*Pisum sativum* L.), pinhão do pinheiro-do-paraná (*Araucaria angustifolia*) (fruto ou o vegetal sem a casca)	Guaiacol/caqui: 24,05 U.mL^{-1}, carambola: 72,15 U.mL^{-1}, inhame: 794 U.mL^{-1}, açafrão: 1010 U.mL^{-1}, yacon: 1766 U.mL^{-1}, feijão de ervilha: 2428 U.mL^{-1} , pinhão: 3246 U.mL^{-1}	Fritzen-Garcia *et al*., 2009.

*Atividades expressas em U.mL $^{-1}$ definido como unidade de atividade enzimática por mL de extrato; UE.g^{-1} e U.g^{-1} são definidas como aumento de 0,1 unidade de absorbância por minuto por g de amostra; U.min^{-1}.ml^{-1} é definida como à variação de uma unidade de absorbância por minuto por mL de amostra e Unidade/mg proteína é definida como unidade de atividade enzimática por casda mg de proteína; U.mg é uma unidade de atividade enzimática por mg de proteína, U.min.g onde uma unidade de atividade é definida como uma mudança na absorbância de 0,001 min^{-1} por g de vegetal.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 2. *Vegetal ou parte da planta utilizada na extração e etapas de extração das peroxidases.*

Vegetal / parte de onde foi extraída a enzima	Etapas de extração	Referência
Soja (*Glycine max*)(casca) Luffa (*Luffa acutangula*) (fruto)	Esmagamento, homogeneização com solução tampão. filtração e centrifugação. Sobrenadantes - extrato bruto. Armazenamento dos extratos com maior atividade enzimática. Extração para os vegetais em separado.	Chiong *et al.*, 2016
Soja (*Glycine max*) (casca)	Imersão em água destilada, remoção das cascas, trituração em solução tampão, filtração e centrifugação. Sobrenadante = extrato enzimático bruto.	Chagas *et al*., 2015
Soja (*Glycine max*) (casca de 65 variedades)	Imersão em água destilada, remoção e secagem das cascas, moagem, ressuspensão em água destilada, homogeneização em vórtex, repouso, homogeneização, centrifugação. Sobrenadante = extrato enzimático bruto.	Steevensz *et al*., 2014.
Guariroba (*Syagrus oleracea* Becc) (hastes divididas em cabeça e coração)	Maceração manual em tampão fosfato (50 mmol.L^{-1}/sacarose 400 mmol.L^{-1} pH 6,5) gelado. Agitação (40 min/4°C) e centrifugação (2800*g*/20 min/4°C). Sobrenadante = extrato enzimático bruto.	Carneiro *et al*., 2003.
Uva (*Vitis vinifera L.)* variedades Benitaka e Rubi (fruto)	Mistura em tampão, homogeneização com adição de polivinilpirrolidona, filtração e recolhimento do filtrado em banho de gelo, centrifugação, congelamento do sobrenadante (fração enzimática solúvel). Precipitado homogeneizado em NaCl (1M) e solução tampão, centrifugação, congelamento do sobrenadante (extrato enzimático ionicamente ligado).	Freitas *et al*., 2008.
Baunilha (*Vanilla planifolia*) (fava)	Lavagem com água destilada, corte em partes, liofilização, moagem, homogeneização em tampão adicionado de EDTA, DL-ditiotreitol e polivinilpolipirrolidona, filtração e lavagem do resíduo com tampão, centrifugação, armazenagem do sobrenadante. Material sólido suspenso em tampão e NaCl, homogeneização e agitação, centrifugação, obtenção da enzima ionicamente ligada. Diálise. Obtenção do extrato ionicamente ligado bruto.	Márquez *et al*., 2008.
Rabanete (*Raphanus sativus* L.) (raiz)	Homogeneização em tampão, filtração, centrifugação e armazenamento.	Fricks *et al*., 2006.
Cola nítida (frutos das variedades branca e vermelha) *e Cola acuminata* (fruto)	Tampão A: homogeneização em tampão fosfato, centrifugação, sobrenadante utilizado como extrato enzimático. Tampão B: homogeneização em tampão Tris-HCl contendo glicerol. Demais procedimentos como descrito anteriormente. Tampão C: homogeneização em tampão Tris-HCl contendo glicerol, PEG, ácido cítrico, L-cisteína e ácido ascórbico. Demais procedimentos como descrito anteriormente	Adewale e Adekunle, 2018.
Acelga *(Beta vulgaris*), espinafre (*Spinacia oleracea*), alface romana (*Lactuca sativa* var longifolia), alface manteiga (*Lactuca sativa*), repolho (*Brassica oleracea* var. capitata) (folhas)	Cominuição, homogeneização, filtração e centrifugação. Sobrenadante = extrato enzimático bruto.	Ponce *et al*., 2004.
Caqui (*Diospyros kaki* L.), carambola (*Averrhoa carambola* L.), inhame (*Dioscorea sp.*), açafrão (*Crocus sativus* L.), yacon (*Smallanthus sonchifolius*), feijão de ervilha (*Pisum sativum* L.), pinhão do pinheiro-do-paraná (*Araucaria angustifolia*) (fruto ou o vegetal sem a casca)	Homogeneização em solução tampão, filtração, centrifugação, armazenamento. Sobrenadante = extrato enzimático bruto.	Fritzen-Garcia *et al*., 2009.

T_{amb} significa temperatura ambiente.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 3. *Vegetais de onde foram extraídas peroxidases, etapas de purificação e incremento na atividade enzimática em relação ao extrato bruto.*

Vegetal/ parte de onde foi extraída a enzima	Método de purificação	Resumo da execução do método de purificação	Referência
Batata doce (*Ipomoea batatas*) (tubérculo sem casca)	Precipitação seguida de cromatografia de exclusão molecular	1ª purificação: saturação com $(NH_4)_2SO_4$, repouso, separação do sobrenadante, adição de $(NH_4)_2SO_4$, repouso, centrifugação, ressuspensão do precipitado em tampão, diálise, obtenção do extrato concentrado. 2ª purificação: cromatografia por exclusão molecular com *Sephadex* G-100, eluição com tampão fosfato, monitoramento das concentrações de proteína por espectrofotometria.	Zeraik *et al.*, 2008
Abobrinha (*Cucurbita pepo*) (vegetal fresco)	Precipitação	Precipitação com acetona, centrifugação, precipitado suspendido em tampão fosfato, obtenção da peroxidase parcialmente purificada.	Boucherit *et al.*, 2013
Espinafre de água *(Ipomoea aquatica* Forssk.) (folhas)	Precipitação	Fracionamento do extrato com $(NH_4)_2SO_4$ nas concentrações de 0-10%, 10-20%, 20-40% e 40-65%, obtenção de quatro frações, diálise de cada fração.	Rusdi *et al.*, 2014
Palmeira tamareira (*Phoenix dactylifera* L.) (folhas)	Resina de troca iônica/ cromatografia de exclusão	Aplicação do extrato em coluna DEAE-*Sepharose*, lavagem com tampão de equilíbrio, eluição em tampão de equilíbrio, obtenção de frações. Frações que mostraram atividade da peroxidase: agrupadas e concentradas por ultrafiltração. Enzima concentrada carregada em coluna de filtração de gel equilibrada com tampão. Frações com atividade agrupadas.	Al-Senaidy e Ismael, 2011
Alface (*Lactuca sativa*) (hastes)	Precipitação, filtração em gel e cromatografia de afinidade	1ª purificação: precipitação por saturação com $(NH_4)_2SO_4$, centrifugação, sobrenadante reunido e adicionado de sulfato de amónio, repouso, centrifugação, precipitado dissolvido em água destilada e dialisado. 2ª purificação: filtração em gel em coluna *Sephadex* G-100 equilibrada com tampão Tris-HCl, coluna eluída no mesmo tampão, coleta das frações proteicas eluídas, atividade da peroxidase e homogeneização das frações que apresentaram elevada atividade. 3ª purificação: cromatografia de afinidade com *Concanavalin* A equilibrada com tampão Tris-HCl, $CaCl_2$, $MnCl_2$ e NaCl, eluição com tampão contendo glicose e manose.	Hu *et al.*, 2012
Corriola (*Ipomoea palmeta*) (folhas)	Extração seguida de filtração em gel	1ª purificação: extração aquosa bifásica (polietilenoglicol e (NH4)2SO4), formação de duas fases ao longo do tempo, atividade enzimática e da concentração de proteína das fases. 2ª purificação: filtração em gel (coluna de *Sephadex* G-100). equilibrada e eluída com tampão fosfato de sódio, determinação da absorbância (λ=280 nm) e da atividade da peroxidase.	Srinivas *et al.*, 1999
Vassoura espanhola branca (*Cytisus multiflorus*) (hastes)	Extração seguida de cromatografia de troca iônica.	1ª purificação: extração aquosa bifásica (polietilenoglicol/$(NH_4)_2SO_4$, formação de duas fases, centrifugação da fase inferior. 2ª purificação: titulação da fase inferior, aplicação em coluna de *Phenyl-Sepharose* equilibrada com tampão fosfato, eluição com tampão fosfato e $(NH_4)_2SO_4$, diálise contra tampão acetato de sódio, concentração em membrana, aplicação em coluna TSK-Gel DEAE-5PW equilibrada com tampão acetato de sódio-acético, eluição com NaCl no mesmo tampão, frações atividade enzimática recolhidas, diálise contra tampão acetato de sódio-ácido acético. 3ª purificação: concentração em membrana, aplicação em coluna HiTrap SP™ HP equilibrada com tampão acetato de sódio-ácido acético, eluição com solução fosfato com NaCl, recolhimento das frações, diálise contra tampão acetato de sódio-ácido acético. 4ª purificação frações concentradas em membrana, aplicação em *Superdex*-200 equilibrado com tampão fosfato, eluição pelo mesmo	Galende *et al.*, 2015.

© 2010. Porto Alegre, RS. Brasil

		tampão, frações contendo peroxidase recolhidas após o último passo de purificação, concentradas e armazenadas.	
Rabanete *(Raphanus sativus L.),* Nabo (*Brassica rapa* L.*)* (raiz)	Precipitação seguida de cromatografia de afinidade	Extrato bruto aplicado à coluna de afinidade (*Sepharose*-4B-L-tirosina-4-aminobenzohidrazida equilibrada com tampão fosfato), lavagem do gel de afinidade, peroxidase eluída em solução de NaCl e KH_2PO_4, diálise.	Kalin *et al*., 2014.
Castanha (*Castanea molíssima*)	Precipitação	1ª purificação: precipitação com de sulfato de amónio, centrifugação, redissolução, diálise contra tampão fosfato. Solução dialisada coletada e condensada em tubos de corte de 10 kDa com polietileno glicol, liofilização (pó de enzima bruto). 2ª purificação: pó de enzima bruto dissolvido em tampão, carregamento em coluna de troca de íons DEAE-52, pré-equilibrada com tampão, eluição com o mesmo tampão, coleta de frações para atividade enzimática.	Gong *et al*., 2015
Pinhão manso (*Jatropha curcas*) (folhas)	Precipitação	1ª purificação: saturação com $(NH_4)_2SO_4$, centrifugação, sobrenadante saturado com $(NH_4)_2SO_4$, centrifugação, sedimento dissolvido em tampão. 2ª purificação: dessalinização em coluna de *Sephadex* G-25. pré-equilibrada com tampão, eluição com o mesmo tampão, recolhimento das frações com atividade. 3ª purificação: frações injetadas em coluna HiTrap Q HP, eluição, frações que mostraram atividade foram recolhidas.	Cai *et al.*, 2012.

Tabela 4. *Vegetais de onde foram extraídas peroxidases e incremento na atividade enzimática em relação ao extrato bruto.*

Vegetal/ parte de onde foi extraída a enzima	**Método de purificação**	**Incremento na atividade em relação ao extrato bruto**	**Referência**
Batata doce (*Ipomoea batatas*) (tubérculo sem casca)	Precipitação seguida de cromatografia de exclusão molecular	1° purificação: 5,79 vezes; 2° purificação: 8,57 vezes.	Zeraik *et al.*, 2008
Abobrinha (*Cucurbita pepo*) (vegetal fresco)	Precipitação	1,34 vezes.	Boucherit *et al.*, 2013
Espinafre de água *(Ipomoea aquatica* Forssk.) (folhas)	Precipitação	Fração 1: 1,87 vezes; Fração 2: 1,64 vezes; Fração 3: 1,18 vezes; Fração 4: 3,32 vezes.	Rusdi *et al.*, 2014
Palmeira tamareira (*Phoenix dactylifera* L.) (folhas)	Resina de troca iônica/ cromatografia de exclusão	1ª purificação: 1,4 vezes; 2ª purificação: 3,5 vezes; 3ª purificação: 17 vezes.	Al-Senaidy e Ismael, 2011
Alface (*Lactuca sativa*) (hastes)	Precipitação, filtração em gel e cromatografia de afinidade	1ª purificação: 1,32 vezes; 2ª purificação: 2,71 vezes; 3ª purificação: 17,92 vezes.	Hu *et al.*, 2012
Corriola (*Ipomoea palmeta*) (folhas)	Extração seguida de filtração em gel	1ª purificação: fase superior – zero; fase inferior: 2,18 vezes; 2ª purificação: 48,6 vezes.	Srinivas *et al.*, 1999
Vassoura espanhola branca (*Cytisus multiflorus*) (hastes)	Extração seguida de cromatografia de troca iônica.	1ª purificação: 7,9 vezes; 2ª purificação: 66,9 vezes; 3ª purificação: 274,5 vezes; 4ª purificação: 1167,8.	Galende *et al.*, 2015.
Rabanete *(Raphanus sativus L.),* Nabo (*Brassica rapa* L.*)* (raiz)	Precipitação seguida de cromatografia de afinidade	Rabanete: 40,3 vezes. Nabo: 269,13 vezes.	Kalin *et al*., 2014.
Castanha (*Castanea molíssima*)	Precipitação	1ª purificação: 4,01 vezes; 2ª purificação: 9,52 vezes.	Gong *et al*., 2015
Pinhão manso (*Jatropha curcas*) (folhas)		1ª purificação: 22,2 vezes; 2ª: purificação: 24,1; 3ª purificação: 216 vezes.	Cai *et al.*, 2012.

© 2010. Porto Alegre, RS. Brasil

FT-RAMAN E GC/MS DE EXTRADO E CERAS EPICUTICULARES DAS FOLHAS DE *ANACARDIUM OCCIDENTALE* L. DA AMAZÔNIA

FT-RAMAN AND GC/MS OF EXTRACT AND EPICUTICULAR WAXES OF *ANACARDIUM OCCIDENTALE* L. LEAVES FROM AMAZON.

RAMOS, Glenda Quaresma[1], MOREIRA DE ALMEIDA, Sheylla Susan[2], AMARAL, Ana Claudia Fernandes [3], MAIA DA COSTA, Marcelo [4], DA FONSECA FILHO, Henrique Duarte [5*]

[1] State University of Amazonas, Programa de Pós Graduação em Medicina Tropical, 69040-000, Manaus, Brazil.

[2]Department of Health Sciences, Federal University of Amapa, 68903-419, Amapa, Brazil.

[3] Laboratory of Medicinal Plants and Derivatives, Farmanguinhos, Fiocruz, 21040-900, Rio de Janeiro, Brazil.

[4] Pontifical CatholicUniversity of Rio de Janeiro, 22451-900, Rio de Janeiro, Brazil.

[5] Federal University of Amazonas, Physics Department, 69077-000, Manaus, Brazil.

** Corresponding author*
e-mail: hdffilho@ufam.edu.br

Received 25 October 2018; received in revised form 10 December 2018; accepted 13 December 2018

RESUMO

Anacardium occidentale é uma planta mundialmente conhecida e tem grande importância econômica na industria de alimentos e resinas. Na medicina tradicional, diversos usos são feitos das folhas no tratamento de doenças gastrointestinais e de pele. Suas propriedades biológicas foram confirmadas em estudos antioxidantes, antimicrobianos e antiinflamatórios. Este trabalho teve como objetivo analisar a composição química do extrato etanólico e das cera epicuticulares das folhas de *A. occidentale* por meio das técnicas de Cromatografia Gasosa (CG/EM) e Espectroscopia Raman (FT-Raman). A análise de FT-Raman mostrou um estiramento do C-H_2, banda característica em ceras epicuticulares de plantas. Na CG/EM foram observados um complexo de misturas alifáticas e cíclicas, entre elas os alcanos e triterpenos. No extrato etanólico os terpenos foram os compostos marjoritários identificados por CG/EM. O conhecimento da composição química do *A. occidentale*, principalmente das ceras epicuticulares, mostra-se importante devido a sua relevância no mercado, e torna-se partida para novos estudos de conhecimento agroecologico, como as propriedades das ceras epicuticulares na interação com o meio ambiente, patógenos e herbicidas, e também para a busca de novas propriedades farmacológicas.

Palavras-chave: Anacardiaceae, espectroscopia, cromatografia, terpenos.

ABSTRACT

Anacardium occidentale is a globally known plant and has great economic importance in the food and resins industry. In traditional medicine, several uses are made of leaves in the treatment of gastrointestinal and skin diseases. Its biological properties have been confirmed in antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory studies. This work aimed to analyze the chemical composition of the ethanolic extract and the wax epicuticulares of the leaves of A. occidentale by means of the Gas Chromatography (GC/MS) and Raman Spectroscopy (FT-Raman) techniques. FT-Raman analysis showed a stretch of the C-H_2, characteristic band in plant epicuticular waxes. In CG/MS a complex of aliphatic and cyclic mixtures was observed, among them alkanes and triterpenes. In the ethanolic extract the terpenes were the majority compounds by CG/MS. The knowledge of the chemical composition of A. occidentale, mainly of the epicuticular waxes, is important due to its relevance in the market, and it becomes a starting point for new studies of agroecological knowledge, such

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

as the properties of epicuticular waxes in the interaction with the environment , pathogens and herbicides, and also for the search of new pharmacological properties.
Keywords: Anacardiaceae, spectroscopy, chromatography, terpenes.

INTRODUCTION

Anacardiaceae is a large family (Dicotyledonae) which comprises about 70 genera with approximately 875 species widely distributed in tropical regions. In Brazil, it can be stand out, mainly, *Anacardium, Mangifera, Spondias* and *Schinus*genus (Mabberley, 1997). The Anacardium genus, described by Carl Linnaeus, is distributed in several regions of the world, showing adaptation in many ecosystems. Into the different species, it is interesting to highlight the *Anacardium occidentale* Lineus, or cashew, the nuts have great value in the international market of food, besides numerous uses in the plastics and resins industry (Fernandes *et al.*, 1993; Paramashivappa *et a*l., 2001).

Several studies have reported the use of various parts of the cashew in traditional medicine. The leaves are used to treat intestinal problems, sore throats, respiratory diseases, diabetes, hemorrhage, antiscorbutic, muscle weakness and urinary disorder (Kamtchouing *et al.*, 1998; Taylor, 2005). Pharmacognostic studies were carried out indicated the presence of flavonoids, anthocyanins, cardiac glycosides, tannins, sterols and triterpenos (Correa *et al.*, 1995; Di Stasi, 2002; Guerrero *et al.*, 2002; Yermakov *et al.*, 2010).

In recent years it has given a focus also on the leaf surface studies, that is a layer that allows interaction between the external and internal environment, this layer is called the cuticle, formed principally of cutin and waxes. The waxes are important to the structure and function of cuticle and are either deposited within the cutin matrix, or accumulate on its surface as crystals or films (Jefree, 2006; Yeats and Rose, 2013). In most cases, the majority of compounds comprising the cuticular wax is derived from very-long-chain fatty acids, including alkanes, aldehydes, primary and secondary alcohols, ketones, and esters. In some species, various lipophilic secondary metabolites, such as triterpenoids, flavonoids, and tocopherols (Tulloch, 1976; Barker, 1982; Bianchi, 1996).

This study aimed to analyze the chemical constituents of the ethanolic extract and epicuticular waxes from the leaves of *A. occidentale* L. using spectroscopy FT-Raman (Fourier Transform Raman) and Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS).

MATERIALS AND METHODS

2.1. Botanical Material

The fresh leaves (Figure 1) were collected in May 2014 at the Federal University of Amapá campus (0°0’22,9212”, S 51°5.5896' W, altitude 6.0 m). The voucher specimens have been in the Amapaense Herbarium (HEMAB) located in IEPA (State of Amapá Institute of Scientific and Technological Research), under registration number 018684.

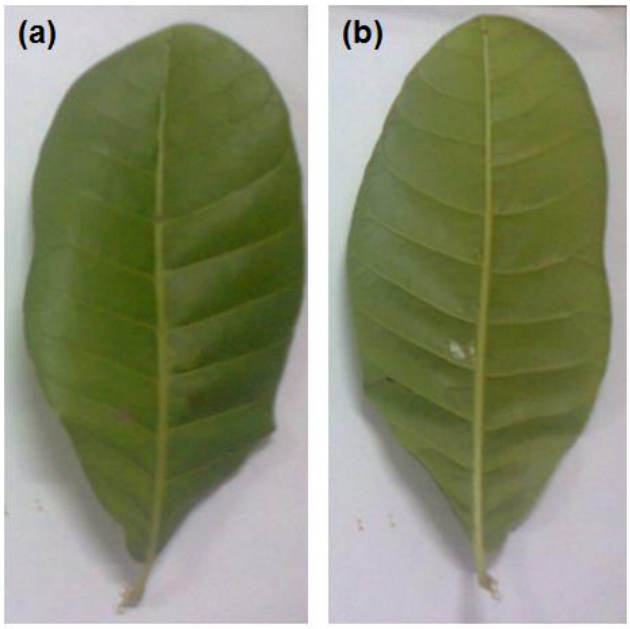


Figure 1 *- A. occidentale leaf features. (a) Upper surface. (b) Lower surface.*

2.2. Ethanol Extract

To obtain the alcohol extract from the leaves, they were separated, cleaned and dried in a circulating air oven at 40° C for 72 hours. Then, they were milled and the resulting powder, stored. The extract was prepared from five hundred grams (500 g) of leaf powder was

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

weighed using an electronic weighing balance and soaked in ethyl alcohol, at a ratio of 1:4 (powder/solvent). The powdered leaves were extracted using the ethanol through maceration for 72 h, at room temperature, and that process was repeated three times, and subsequently filtered using filter paper (Matos, 1995). The filtrate was concentrated using rotary evaporator.

2.3. Epicuticular Wax

For extraction of the waxes, after washed and drought, the leaves were placed in contact with Chloroform and agitated slightly by 30 seconds (Hamilton, 1996). The materials obtained were later kept for evaporation to remove the excess solvents.

2.4. Raman Spectroscopy

The analyses of Raman were made in the Coatings Guards Laboratory and Nanostructured Materials at Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-RJ). For the measurements, a 473 nm laser and a confocal NT-MDT NTEGRA spectrometer were used. The spectra were recorded at 4 cm^{-1} spectral resolution over the wavenumbers 200-3500 cm^{-1}, for no sample degradation, we performed a single scan over a period of the 30s.

2.5. CG/MS

Both the ethanolic extract and the epicuticular wax were analyzed by HP6890 gas chromatograph interfaced with an HP5873, Mass Selective Detector (ionization energy 70 eV), equipped with a DB-5MS capillary column (30 m×0.25 mm thickness; 0.25 μm film coating). The column temperature was programmed to 70-305 ºC at 5 °C/min using helium as the carrier gas (1.0 mL/min). The injector and detector temperatures were 230 °C and 280 °C respectively. Identification of the components was done based on retention index, compared with reference spectra (Wiley, NIST databases) and MS literature data (Adams, 2009).

RESULTS AND DISCUSSION:

The FT-Raman spectra in ethanol extract showed no characteristic bands enough for interpretation (Figure 2).

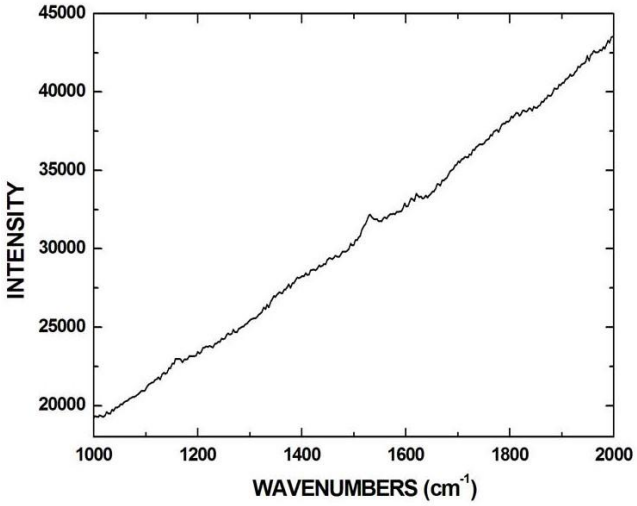


Figure 2 – *FT-Raman spectra of ethanolic extract.*

This may be due to difficulties encountered when making measurements with Raman spectroscopy, for example, some biological samples may cause a strong fluorescence, another problem is the time of exposure to the laser that causes interference and can damage the samples; problems that make it difficult to read the spectra (Scharader *et al.* 1994; Reitzenstein *et al*., 2007; Littlejohn *et al.*, 2015). The analysis of the wax samples showed peaks characteristic (Figure 3). The bands in 1063 cm^{-1} correspond to the stretching of the C-C ligation. The bands in 1443 and 1463 cm^{-1} are attributed with C-H deformation, the 1299 cm^{-1} is associated with the deformation of CH_2.

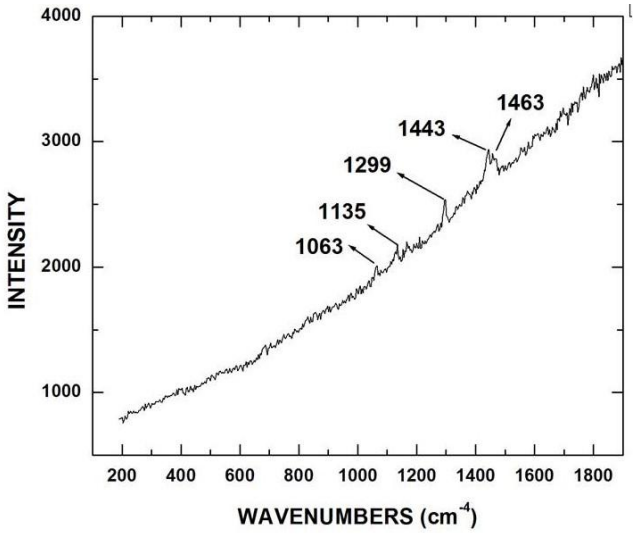


Figure 3 *– FT-Raman spectra of the epicuticular waxes.*

Figure 4 shows a stronger band between 2700-3600 cm^{-1}. Similar bands were well

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

characterized in other studies with epicuticular waxes, which correspond to symmetric and nonsymmetric stretching modes CH_2 (Littlejohn *et al.*, 2015; Prinsloo *et al*. 2004; Weissflog *et al*, 2010; Jetter *et al.*, 2007), and peak at 2930 cm^{-1} is assigned to the terminal portion of the CH_3 groups (Prinsloo *et al*., 2004).

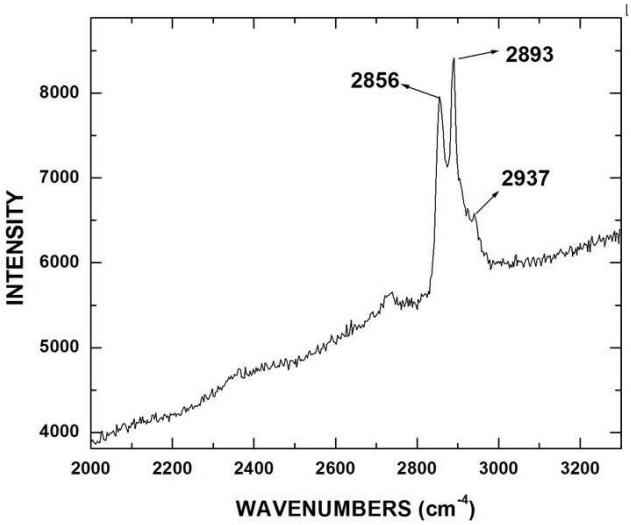


Figure 4 *– FT-Raman spectra of the epicuticular waxes.*

GC/MS analyses of the epicuticular waxes revealed the presence of the 10 constituents, totaling 93.39 % of the composition (Table 1). The identified compounds and their respective percentages are shown in Table 1. According to CG-MS analyses, odd-numbered n-alkanes were the principal wax constituents, accounting for 83.52 % of the identified compounds. The majority of these alkanes are hentriacontane (36.74 %) and nonacosane (33.48 %). It is also verified the presence of triterpenes Moretenol (11.49%), α-amyrin (2.73 %) and Cycloartenol (1.13 %).

Table 1 *- Chemical composition of epicuticular waxes by GC/MS.*

Retention time (min)	Compound	%
41.790	Heptacosane	0,32
43.207	Octacosane	0,47
44.640	Nonacosano	33,48
45.916	Triacontane	2,27
47.267	Hentriacontano	36,74
48.455	Dotriacontano	1,27
49.694	Tritriacontane	3,49
50.637	*α*-Amyrin;	2,73
50.882	Cycloartenol	1,13
51.335	Moretenol	11,49

In studies with epicuticular waxes present high proportions of n-alkanes C_{27} to C_{33} (Jetter *et al.*, 2007). The terpenoid has been detected in the cuticular waxes of many plant species, and their derivatives too, with small amounts ranging from less than 50% of the total wax mixture (Oliveira and Salatino, 2000; Van Maarseveen and Jetter, 2009).

The GC/MS analyses of the ethanolic extract revealed the presence of the n-alkanes, fatty acids, phytosterols, and triterpenoids (Table 2). The identified compounds and their respective percentages are shown in Table1. The majority compounds were a-tocopherol (21%); sitosterol (17,13%), dammaradienol (12%) and phytol (8,70%). These show that the terpenes were the most prominent compounds in the ethanolic extract leaves.

Table 2 *- Chemical composition of ethanolic extract by GC/MS.*

Retention time (min)	**Compounds**	**%**
19,434	2,4-di-ter-butylphenol	0,49
28,886	Pinane;	0,39
29,291	Palmitic acid;	1,66
29,981	Palmític acid ethyl ester	1,19
32,163	Phytol	8,70
32,616	9,12,15-Octadecatrien-1-ol;	0,47
33,076	Stearic acid;	0,40
33,187	7,10,13-Hexadecatrienoic acid, methyl ester	0,65
43.385	Squalene	1,16
44.580	Nonacosane	4,34
47.557	*α*-Tocopherol;	21,16

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

49.984	Sitosterol	17,13
50.630	*α*-Amyrin	2,84
51.305	Dammaradienol;	12,0

The presence of the terpenes and sterols are well detected in the leaves of the cashew and have contributed to the chemical knowledge of the plant (Maia *et al*., 2000). Tocopherols are well known about their high antioxidant activity (Ammouche *et al*., 2002; Kiron *et al*., 2004). Sitosterols have been reported to anti-inflammatory (Dillard and German, 2000), antidiabetic (Ju *et al*., 2004), antimicrobial and antioxidant (Sen *et al*., 2012) activities. In general, the triterpenoids compounds have anti-inflammatory activity and cytoprotective effects. Phytol besides having significantly antimicrobial property (Bharathy and Maria, 2012) It is also precursors do tocopherol and related with developed of the the plant (Oyugi *et al*., 2011; Vom Dorp *et al.*, 2015)

The analyses of the *A. occidentale* compounds revealed the presence of the general compounds with biological activities. Studies performed with leaves *A. occidentale* showing the hypoglycemic effect (Kamtchouing *et al*., 2007; Alexander-Lindo *et al*., 2004), antioxidant (Arul and Thangavel, 2011) and antimicrobial (Arul and Thangavel, 2011; Varghese *et al*., 2013) related with presence that compounds.

CONCLUSIONS:

The data show that Raman that non-destructive technique can be used to identify the chemical composition of natural products. All gas chromatography analyses 21 compounds have been described, the majority n-alkanes, terpenes both the ethanolic extract and the epicuticular wax, respectively. Being the cuticle the first face contact with the external environment and the importance of it against the action of pathogens, chemical study of the epicuticular wax is shown to be necessary for the improvement of cultivars, such as applying herbicides to the leaves.

REFERENCES:

1. Mabberley, D.J. The Plant-Book: A Portable Dictionary of the Vascular Plants. Cambridge University Press, **1997**
2. Fernandes, A.M.A.P., Barata, L.E.S., Ferri, P.H. Lignans and a neolignan from Virola oleifera leaves. *Phytochemistry,* **1993**, 32, 1567.
3. Paramashivappa, R., Kumar, P.P., Vithayathil, P.J., Rao, A.S. Novel method for isolation of major phenolic constituents from cashew (Anacardium occidentale L.) nut shell liquid. *J Agric Food Chem,* **2001,** 49, 2548.
4. Kamtchouing, P., Sokeng, S.D., Moundipa, P.F., Watcho, P., Jatsa, H.B., Lontsi, D. Protective role of Anacardium occidentale extract against streptozotocin-induced diabetes in rats. *J Ethnopharmacol,* **1998**, 62, 95.
5. Taylor, L. The Healing Power of Rainforest Herbs: A Guide to Understanding and Using Herbal Medicinals. Square One Publishers**, 2005**
6. Correa, S. M. V., Conserva, L. M., MAIA, J. G. S. Constituents of roots of Inga edulis var. parviflora. Fitoterapia **1995**, 66, 379.
7. Di Stasi, L.C., Hiruma-Lima, C. A. Plantas Medicinais da Amazônia e na Mata Atlântica. 2nd ed. São Paulo: Jézio Hernani Bomfim Gutierre, **2002**
8. Guerrero, M.F., Puebla, P., Carrón, R., Martín, M.L., Arteaga, L., Román, L.S. Assessment of the antihypertensive and vasodilator effects of ethanolic extracts of some Colombian medicinal plants. *J Ethnopharmacol* **2002**, 80, 37.
9. Yermakov, A.I., Khlaifat, A.L., Qutob, H., Abramovich, R.A., Khomyakov, Y.Y. Characteristics Of The GC-MS Mass Spectra Of Terpenoids ($C_{10}H_{16}$). *Chem Sci J* **2010**, 2010.
10. Jeffree, C.E. The fine structure of the plant cuticle. In: Biology of the Plant Cuticle. Oxford: Riederer, M., Müller, C. (Eds.), **2007**, 11.
11. Yeats, T.H., Rose, J. K.C. The Formation and Function of Plant Cuticles | Plant Physiology. *Plant Physiol* **2013**, 163, 5.
12. Tulloch, A. P. Chemistry of waxes of higher plants. In: Chemistry and biochemistry of natural waxes. California: Kolattukudy, P.E., **1976**, 287.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

13. Barker, E. A. Chemistry and morphology of plant epicuticular waxes. In: Chemistry and morphology of plant epicuticular waxes. London: D. F. Cutler, K. L. Alvin, C. E. Price (Eds), **1982**, 139–165.

14. Bianchi, G. Plant waxes. In: Waxes: Chemistry, Molecular Biology and Functions. Dundee: R. J. Hamilton (Ed), **1995**, 177–222.

15. Matos, F.J.A. Introdução à Fitoquímica Experimental. Fortaleza, **1988.**

16. Hamilton, R.J. Waxes: Chemistry, Molecular Biology and Functions. Oily Press, **1995.**

17. Adams, R.P. Identification of Essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 4th ed. Carol Stream, Illinois: Allured Publishing Corporation, **2007.**

18. Riederer, M., Schreiber, L. Waxes–the transport barriers of plant cuticles. In: Waxes: Chemistry, Molecular, Biology and Functions. R. J. Hamilton (Ed), **1995.**

19. Reitzenstein, S., Rösch, P., Strehle, M.A., Berg, D., Baranska, M., Schulz, H., Rudloff, E., Popp, J. Nondestructive analysis of single rapeseeds by means of Raman spectroscopy. *J Raman Spectrosc* **2007**, 38, 301.

20. Littlejohn, G.R., Mansfield, J.C., Parker, D., Lind, R., Perfect, S., Seymour, M., Smirnoff, N., Love, J., Moger, J. In vivo chemical and structural analysis of plant cuticular waxes using stimulated Raman scattering microscopy. *Plant Physiol* 2015, 168, 18.

21. *Prinsloo LC, Plooy W du, Merwe C van der.* Raman spectroscopic study of the epicuticular wax layer of mature mango (Mangifera indica) fruit. J Raman Spectrosc 2004; 35: 561–567

22. Weissflog, I., Vogler, N., Akimov, D., Dellith, A., Schachtschabel, D., Svatos, A., Boland, W., Dietzek, B., Popp, J. Toward in vivo chemical imaging of epicuticular waxes. *Plant Physiol* **2010**, 154, 604.

23. Jetter, R., Kunst, L., Samuels, A.L. Composition of Plant Cuticular Waxes. In: Annual Plant Reviews Volume 23: Biology of the Plant Cuticle. Wiley-Blackwell, **2007**: 145–181 Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9780470988718.ch4

24. Oliveira, A.F., Salatino, A. Major constituents of the foliar epicuticular waxes of species from the Caatinga and Cerrado. Z Naturforschung C *J Biosci* **2000**, 55, 688.

25. van Maarseveen, C., Jetter, R. Composition of the epicuticular and intracuticular wax layers on Kalanchoe daigremontiana (Hamet et Perr. de la Bathie) leaves. *Phytochemistry* **2009**, 70, 899.

26. Maia, J.G.S., Andrade, E.H.A., Zoghbi M. das, G.B. Volatile Constituents of the Leaves, Fruits and Flowers of Cashew (Anacardium occidentale L.). *J Food Compos Anal* **2000**, 13, 227.

27. Ammouche, A., Rouaki, F., Bitam, A., Bellal, M.M. Effect of ingestion of thermally oxidized sunflower oil on the fatty acid composition and antioxidant enzymes of rat liver and brain in development. *Ann Nutr Metab* **2002**, 46, 268.

28. Kiron, V., Puangkaew, J., Ishizaka, K., Satoh, S., Watanabe, T. Antioxidant status and nonspecific immune responses in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) fed two levels of vitamin E along with three lipid sources. *Aquaculture* **2004**, 234, 361.

29. Dillard, C.J., German, J.B. Phytochemicals: nutraceuticals and human health. *J Sci Food Agric* **2000**, 80, 1744.

30. Ju, Y.H., Clausen, L.M., Allred, K.F., Almada, A.L., Helferich, W.G. beta-Sitosterol, beta-Sitosterol Glucoside, and a Mixture of beta-Sitosterol and beta-Sitosterol Glucoside Modulate the Growth of Estrogen-Responsive Breast Cancer Cells In Vitro and in Ovariectomized Athymic Mice. *J Nutr* **2004**, 134, 1145.

31. Sen, A., Shukla, K. Analysis of IR, NMR and Antimicrobial Activity of β-Sitosterol Isolated from Momordica charantia. Sci Secure *J Biotechnol* **2012**, 1, 9.

32. Bharathy, V., Sumathy, B. M., Uthayakumari, F. Determination of

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

phytocomponents by GC-MS in leaves of Jatropha gossypifolia L. *Sci Res Report* 2, 286.

33. Oyugi, D.A., Ayorinde, F.O., Gugssa, A., Allen, A., Izevbigie, E.B., Eribo, E., Anderson, W.A. Biological activity and mass spectrometric analysis of Vernonia amygdalina Fractions. *J Biosci Technol* **2011**, 2, 287.

34. Vom Dorp, K., Hölzl, G., Plohmann, C., Eisenhut, M., Abraham, M., Weber, A.P.M., Hanson, A.D., Dörmann, P. Remobilization of Phytol from Chlorophyll Degradation Is Essential for Tocopherol Synthesis and Growth of Arabidopsis. *Plant Cell* **2015**, 27, 2846.

35. Arul, V., Thangavel, K.P. Antioxidant and antimicrobial activity using different extracts of Anacardium occidentale L. Int *J Appl Biol Pharm* **2011**, 3, 436.

36. Varghese, J., Tumkur, V.K., Ballal, V., Bhat, G.S. Antimicrobial effect of Anacardium occidentale leaf extract against pathogens causing periodontal disease. chnol *Adv Biosci Biote* **2013**, 4, 15.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

APLICAÇÃO DE SOL DE SÍLICA NA GEO-CONSTRUÇÃO

SILICA SOL APPLICATION IN GEOCONSTRUCTION

ПРИМЕНЕНИЕ ДИОКСИДА КРЕМНИЯ В ГЕО-СТРОИТЕЛЬСТВЕ

SVATOVSKAYA, Larisa B.[1]

[1] Emperor Alexander I Saint-Petersburg State Transport University (PGUPS), Department of Engineering Chemistry and Natural Science, 9 Moskovsky Ave., zip code 190031, Saint Petersburg – Russian Federation (phone: +89119195484)

Corresponding author
e-mail: lbsvatovskaya@yandex.ru

Received 23 August 2018; received in revised form 09 December 2018; accepted 13 December 2018

RESUMO

O artigo aborda uma série de questões atuais relacionadas com a geoconstrução de transportes e poluição ambiental, tais como a contaminação de solos por metais pesados. O principal objetivo do estudo é apresentar novas soluções e tecnologias para a geoconstrução sobre o uso de substâncias puras para a litosfera. O sol de sílica foi escolhido como esta substancia. A escolha foi feita devido à natureza do sol de sílica. Tendo propriedades importantes é a substância mais pura para o meio ambiente. Métodos experimentais foram realizados. O estudo introduz novas tecnologias para o uso do sol de sílica em sistemas de geoconstrução: tecnologia de desintoxicação de sol de sílica (SDT) para solos, tecnologia de absorção de sílica, tecnologia de fortalecimento de solo (SST), tecnologia de ação bloqueadora de sílica (SBT). O artigo mostra os exemplos da aplicação dessas tecnologias e examina novas propriedades principais dos sistemas de geoconstrução.

Palavras-chave: *geoconstrução, solo, absorção, desintoxicação, fortalecimento, bloqueio*.

ABSTRACT

The article deals with a number of topical issues connected with transport geoconstruction and environmental pollution such as heavy metal ion pollutions of soils. The main aim of the study is to present new problem solutions and technologies for geoconstruction concerning pure substance use for lithosphere. Silica sol solution was chosen as this substance. The choice was made because of silica sol nature. Having important properties, it is the purest substance for the environment. Experimental methods were carried out. The study introduces new technologies of silica sol solution use in geoconstruction systems: silica sol detoxication technology (SDT) for soils, silica sol absorption technology (SAT), soil strengthening technology (SST), silica sol blocking action technology (SBT). The article shows the examples of these technologies' application and examines new main properties of geoconstruction systems.

Keywords: *geoconstruction, soil, absorption, detoxication, strengthening, blocking*.

АННОТАЦИЯ

В статье рассматривается ряд актуальных вопросов, связанных с транспортным гео-строительством и загрязнением окружающей среды, такими как загрязнение ионов металлов тяжелыми металлами. Основная цель исследования – представить новые решения и технологии для решения проблем в гео-строительство, касающиеся использования чистого вещества в литосфере. В качестве

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

этого вещества был выбран коллоидный раствор кремнёвой кислоты. Из-за своей природы происхождения он и был выбран. Обладая необходимым составом, является самым чистым веществом для окружающей среды. Были реализованы экспериментальные методы. В исследовании представлены новые технологии использования растворов диоксида кремния в системах гео-строительства: технология нейтрализация диоксида кремния (НДТ) для грунта, технология поглощения диоксида кремния (ТПДК), технология упрочнения почвы (ТУП), технология защиты кремнезема (ТЗК) и т.д. В статье представлены примеры использования этих технологий и рассматриваются новые основные свойства систем гео-строительства.

Ключевые слова: *гео-строительство, почва, поглощение, нейтрализация, упрочнение, защита*.

INTRODUCTION

The paper presents new solutions of silica sol used in geoconstruction. 3 topical issues of geoconstruction systems are especially important for today's overconsumption of natural resources. They are 2,5% per capita consumption of natural resources instead of 1%, lithosphere pollution by heavy metal ions and oil products during the geoconstruction of different structures, an increase of building material durability to reduce the use of natural resources. It is known that more than 75% of lithosphere minerals are silicates and aluminosilicates, and the nature of these minerals makes them useful for lithosphere protection in geoconstruction. The main aim of the work is to show silica sol application in geoconstruction due to properties of the sol (Sietkaziev *et al.*, 2018).

The papers (Svatovskaya *et al.*, 2017a; Svatovskaya *et al.*, 2017b; Svatovskaya *et al.*, 2017c; Svatovskaya *et al.*, 2017d; Svatovskaya *et al.*, 2004a) examine some properties of silica sol. The great positive argument is that silica sol is the purest substance for the environment. New opportunities of silica sol use technologies are of great interest now. The results of the work demonstrate the possibility of the study of silica sol useful properties to be applied in geobuilding systems and for environmental protection.

The main idea is to apply silica sol properties and Table 1 illustrates silica sol technologies to be used in geoconstruction systems and working principles of silica sol properties.

Thus, Table 1 introduces 4 silica sol use technologies based on the properties of silica sol. Silica sol detoxication technology (SDT) is quite good for railway soil detoxication because railway soils are polluted by heavy metal ions. If there are heavy metal ions, Cu (II); Pb (II); Ni (II); Cd (II); Co (II), the reaction like (Equation 1) takes place (see the Table 1). The thermodynamic calculation determines $\Delta G0\ 298<0$ for the reaction. Besides, another reaction can be performed for detoxication.

The results of the Equations (1) and (2) are heavy metal ion detoxication in soils provided that solubility product of $Me(OH)_2$ and $MeO\ SiO_2\ 2H_2O$ is less than 10^{-15} and tolerable concentration (TC) of Pb (II) in a soil is 0,03 g/kg. The formation of substances with low solubility product is the base of SDT for geoconstruction.

As an artificial stone has pores and capillaries it is possible to improve the surface of a stone when applying silica sol. The point of this technology is the absorption of heavy metal ions by pores and capillaries of an artificial stone. That is why over such substances as SiO2. n H2O the level of a stone hardness and geosphere protection will be increased. It is the principle that SAT operates.

SST suggests the idea of silica gel's binding properties application for geoconstruction. For soil strengthening, Na_2SiO_3 is used and, as a result of Na_2SiO_3 reaction with water, silica gel, and NaOH form: $Na_2SiO_3+2H_2O\rightarrow 2NaOH+SiO_2\cdot H_2O$. But the use of silica sol solution prevents a soil from NaOH pollution. Therefore, nowadays it is the purest substance for lithosphere. So, there is undoubted benefit from SST for geoconstruction.

SBT uses the hard sol screen formed according to SAT. But before the screen formation, an artificial stone is used to absorb oil products or solutions of oil with heavy metal ions. Then the polluted stone is covered by silica sol. In this case, pollutions are blocked in the stone, and the material can be applied for useful purposes. That is the essence of SBT.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

METHODOLOGY

The experimental methods were carried out to examine these 4 technologies. For SDT up to 30%, silica sol solution was applied. The soil contained heavy metal ions up to 1000 TC (tolerable concentration) was irrigated by silica sol solution for its watering and saturation. The size of sol particles was nearly 10 nm, pH of the solution – 10. 1-3 weeks later the aqueous extract from the soil samples were tested using selective electrodes for heavy metal ion presence.

For SAT 1,5-3% silica sol solution was used. After 28 days of hardening, the foam concrete articles with density 400; 500; 600 kg/m3 were saturated with sol solution to improve the state of the surface and other technical properties. The test was done according to the Russian state standards.

For SST 30% silica sol solution was applied to saturate the soil. Because of sol→gel conversion, the soil was strengthened by silica gel. The method suggests $SiO_2 \cdot nH_2O$ use instead of Na_2SiO_3 for strengthening, but without Na (I) pollution, as mentioned above.

During SBT the articles saturated with oil products or oil with heavy metal ion solutions were covered by silica sol to stop pollution extraction from a stone. The aqueous extract from the samples was tested by means of selected electrodes and the oil product analyzer. It should be noted that after treatment by silica sol solution an artificial stone acts like a safe, therefore, the polluted stone can be named the “lithosafe”.

RESULTS AND DISCUSSION:

The solution of silica sol with the size of particles up to 10 nm and pH=10 was applied. For the model experiment of SDT, the sandy soil polluted by heavy metal ions to 1000 TC was used. The first technique was the analysis of the aqueous extract from the polluted soil that was mixed with silica sol. After mixing one could see sediments of different colors. The sediments of the reactions were investigated applying derivatographic method after their drying in the room at a temperature ≈20-25ºC. Table 2 indicates the results of the sediment examination.

The analysis of Table 2 shows that:

1) Water loss is different in various sediments;

2) Light ion of Ca (II) (for comparison) increases the water loss. It makes possible to assume that the formation of calcium silicate hydrates takes place;

3) Heavy metal ions decrease water loss. It makes possible to assume that the formation of heavy metal ions’ silicates occurs.

The second technique was to mix the sandy soil with heavy metal ion pollution and after its saturation with silica sol for a few days, the aqueous extract of the sandy soil was tested for heavy metal ion presence. They were not found. Thus, thermodynamic and experimental values coincided. The practical experiment was done with the areas of different sizes ≈10m2 and 20 m2 in operation, the soil in the experiment had particles ≈3-5 nm in diameter. The sediments of the reactions between silica sol and heavy metal ions in the model aqueous extract of the polluted soil were obtained. The detoxication took place due to the interaction between the sandy soil and silica sol solution. In 3 days the aqueous extract of the soil was taken. Selected electrodes did not show the presence of Pb (II) in it. So, it is possible to detoxicate a soil with more than 1000 TC using a silica sol solution.

The silica sol absorption technology (SAT) is new and quite effective. It is based on sol absorption through pores and capillaries. For SAT the foam concrete articles were used after the process of hardening. After 28 days of hardening, the foam concrete articles were saturated with silica sol during 1 day. The experiment has demonstrated the increase in the articles’ properties. Table 3 contains calculations of material consumption for the foam concrete articles during the experiment.

With the surfaces of the foam concrete articles having been watered by 3% silica sol solution, Table 4 illustrates the properties of foam concrete of different density after the treatment by silica sol.

Moreover, it should be noted that when applying SAT the surface of the foam concrete articles did not have salt efflorescence, i.e. it was purely because of SiO_2 H_2O action. So, the problem of salt efflorescence on the concrete surface can be solved, SAT is one of the solutions to this problem.

With reference to Table 4, SAT can be named technology of preservation of natural substances in terms of cement technology. Taking into consideration the consumption of

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

natural products, fuel, and energy for 1m3 of concrete manufacture, the calculations demonstrate the decrease of natural product consumption. Therefore, the application of SAT is the best for motorways' geoconstruction. There are some problems of concrete surface in geoconstruction, especially in transport construction, e.g. motorways and railways in operation. The paper examines 2 surfaces of B20, B30 concrete used in motorways' geoconstruction. They are outside and inside surfaces. Being under loads, outside surface must have enough hardness, strength (compressive and bending), frost resistance and pollution resistance. Inside surface must have protection at least against water absorption. Road articles' treatment by silica sol was applied using 3% silica sol solution for saturation. The details of the technology, the class of concrete, its properties and examples of the use were examined. The research has shown new possibilities of the quality improvement using the new technology (SAT), particularly, pores and capillaries' healing by means of cement sol on the concrete surface that resulted in concrete hardness increase and water absorption decrease.

Soil strengthening technology (SST) is the result of sol→gel conversion. The technology is nearly the same as SDT but, unlike this, during SST the process does not take place immediately because it takes more time for sol→gel conversion and for gel hardening. As the practical experiment has shown, it took a few days for strengthening because SiO2.nH2O as a gel hardened for a period of time. In the experiment, there was the sandy soil with particles ≈0,5-1,5 nm, the concentration of silica sol solution having been not less than 30%. In that case, the substance which is like sand was used but they were different in size. According to SST soil strengthening is 0,1-0,2 MPa, its value being the same as one when applying Na2SiO3. But silica sol is a pure substance for the environment. Thus, the properties of SiO2.nH2O are good for both strengthening process and the environment.

Silica sol blocking action technology (SBT) is quite a new one for geoconstruction and geoprotection. The result of the technology is the formation of the special surface screen on polluted concrete. Oil pollutions were considered in the experiment that is why the concrete was saturated with oil products. Then the concrete having about 7-10% oil products absorbed was put into silica sol solution for saturation within a few hours. Then, in 3 days later, the system was saturated with water. In 1-3 weeks the aqueous extract was taken from the system for the oil product analyzer test. The oil products were not found in it. The research has shown that the screen formed on the surface of the concrete was 2-4 mm thick. It consisted of silica sol and some substances of interaction between SiO2 nH2O and stone substances.

Table 5 sums up the results of new technologies given above and their application in geoconstruction.

According to Table 5, it is possible to assume that when applying SDT silica sol can have a good strengthening effect because of both SST processes and the presence of Ca (II) (Svatovskaya *et al.*, 2014; Sychova *et al.*, 2009a; Sychova *et al.*, 2009b; Maslennikova *et al.*, 2009; Svatovskaya *et al.*, 2004b; Sychova *et al.*, 2018; Gusev, 2018; Sychova *et al.*, 2017a). If Ca (II) is added in silica sol solution one can obtain calcium silicate that results in soil strengthening (Baimakhan *et al.*, 2008; Sychova *et al.*, 2017b; Kavetsky *et al.*, 2008; Kavetsky *et al.*, 2002; Sychov, 2006; Bakhmetyev *et al.*, 2011; Sychov *et al.*, 2012; Gravit *et al.*, 2015; Mjakin *et al.*, 2016; Mjakin *et al.*, 2014) investigate the mechanism of concrete's main properties increase over calcium silicate hydrates. In these papers, some of them are described, namely: decrease of water absorption as well as salt efflorescence (Bakhmetyev *et al.*, 2011; Sychov *et al.*, 2012; Gravit *et al.*, 2015; Mjakin *et al.*, 2016; Mjakin *et al.*, 2014). As for SBT, it is quite good because of the concrete surface screen. This technology is the best for environmental protection as it enables the useful properties of a stone, in particular: concrete can absorb oil products and then block them in the stone by silica sol screen, which is 2-4 mm sick.

Apart from these technologies silica sol can be used for other purposes, e.g. a new method of identification of soil pollutions such as heavy metal ion pollution can be suggested. The method is qualitative one and it is based on the gelling sediments' color (see Table 2). The point of the method is the reaction between heavy metal ions, Me2+ or Me3+, in the aqueous extract of a polluted soil and silica sol solution. The result of the reaction is the formation of different colours' sediments. For qualitative express method realization, one must take polluted soil and water and mix them in order to get samples of the aqueous extract. Then these samples must

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

be mixed with 30% silica sol solution. Table 6 presents the results of the analysis of the soil polluted by heavy metal ions to 1000 TC.

It is worth mentioning that one must know that if there is white color of Pb(II) or Cd(II) sediments it is important to perform other reactions, e.g. the reaction with I- ions which have yellow sediment for Pb(II) identification or the reaction with S2- ions which result in the formation of the lemon-yellow sediment for Cd(II) identification. Thus, it is possible to use the qualitative express method of free heave metal ion identification in soils in geoconstruction. This method lets everybody easily determine geosphere pollution at once and detoxicate it by means of silica sol.

CONCLUSIONS:

The article analyzes the use of silica sol in geoconstruction. In the article, the properties and technologies of silica sol for geoconstruction have been studied. 4 new technologies based on silica sol properties are examined to find more possibilities for lithosphere preservation during geoconstruction. The research introduces silica sol detoxication technology (SDT) for heavy metal ion detoxication in soils; silica sol absorption technology (SAT) for concrete surface improvement for transport geoconstruction, soil strengthening technology (SST) for strengthening of a soil to 0,1-0,2 MPa; silica sol blocking action technology (SBT) for the formation of the screen on the surface of a stone polluted by oil products. The new qualitative express method for free heavy metal ion identification in geosystems' soils by means of silica sol is suggested. The point of the method is color of the gelling sediments due to the reactions between a soil's aqueous extract and silica sol.

REFERENCES:

1. Baimakhan, R., Danaev, N., Baimakhan, A., Salgaraeva, G., Ylyasova, G., Kurmanbekkizy, N., Kozhebayeva, A., Kulmaganbetova, Z., Zhakashbayev, B., Dashdorj, S. *Geotechnical Engineering for Disaster Mitigation and Rehabilitation – Proceedings of the 2nd International Conference GEDMAR08*, **2008**, 611-615.
2. Bakhmetyev, V.V.; Mjakin, S.V.; Korsakov, V.G.; Abyzov, A.M.; Sychov, M.M. *Glass Physics and Chemistry*, **2011**, 37(5), 549-554.
3. Gravit, M.V.; Gumenjuk, V.I.; Sychov, M.M.; Nedyshkin, O. *Procedia Engineering*, **2015**, 117, 119-125.
4. Gusev, N.; Svatovskaya, L.B.; Kucherenko, A. *E3S Web of Conferences*, **2018**, 33, 02069. https://www.e3s-conferences.org/articles/e3sconf/abs/2018/08/e3sconf_hrc2018_02069/e3sconf_hrc2018_02069.html, accessed July 2018.
5. Kavetsky, A.; Yakubova, G.; Sychov, M.; Lin, Q.; Walter, G.; Chan, D.; Yousaf, S.; Socarras, H.; Abrefah, J.; Bower, K. *Nuclear Science and Engineering*, **2008**, 159, 321-329.
6. Kavetsky, A.G.; Meleshkov, S.P.; Sychov, M.M. *Polymers, Phosphors and Voltaics for Radioisotope Microbatteries*. Boca Raton: CRC Press, **2002**, 1-38.
7. Maslennikova, L.L.; Svatovskaya, L.B.; Mjakin, S.V.; Vasiljeva, I.V. *Electron Beam Modification of Solids: Mechanisms, Common Features and Promising Applications*, New York: Nova Science Pub Inc., **2009**, 57-61.
8. Mjakin, S.V.; Minakova, T.S.; Bakhmetyev, V.V.; Sychov, M.M. *Russian Journal of Physical Chemistry A*, **2016**, 90(1), 240-245.
9. Myakin, S.V.; Sychov, M.M.; Vasina, E.S.; Ivanova, A.G.; Zagrebel'nyi, O.A.; Tsvetkova, I.N.; Shilova, O.A. *Glass Physics and Chemistry*, **2014**, 40(1), 97-98.
10. Sietkaziev, A.S., Kulkaeva, L.A., Shinysherova, G.B. *Periódico Tchê Química*, **2018**, 15(30), 578-588
11. Svatovskaya, L.B.; Kabanov, A.A.; Sychov, M.M. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, **2017a**, 90, 012010. doi: 10.1088/1755-1315/90/1/012010
12. Svatovskaya, L.B.; Kabanov, A.A.; Sychov, M.M. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, **2017b**, 90, 012009. doi: 10.1088/1755-1315/90/1/012009
13. Svatovskaya, L.B.; Kabanov, A.A.; Sychov, M.M. *Procedia Engineering*, **2017c**, 189, 398-403. doi:10.1016/j.proeng.2017.05.063
14. Svatovskaya, L.B.; Sakharova, A.S.; Baidarashvilly, M.M.; Petriaev, A.V. *Proceedings of the 14th International Conference of International Association for Computer Methods and Recent Advances in Geomechanics*, Kyoto, 2014, 152.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

15. Svatovskaya, L.B.; Shershneva, M.V.; Baidarashvili, M.M.; Yakimova, N.I.; Khitrov, A.V. *Proceedings of the International Conference on Sustainable Waste Management and Recycling: Construction Demolition Waste*, London, **2004a**, 199-203.

16. Svatovskaya, L.B.; Urov, O.V.; Kabanov, A.A. *Procedia Engineering*, **2017d**, 189, 454-458. doi: 10.1016/j.proeng.2017.05.073

17. Svatovskaya, L.B.; Yakimova N.I.; Trunskaya O.Y.; Rusanova E.V.; Krylova, N.B. *Proceedings of the International Conference on Sustainable Waste Management and Recycling: Construction Demolition Waste*, London, 2004b, 333-339.

18. Sychov, M.M. *Semiconductors*, **2006**, 40(9), 1016-1020.

19. Sychov, M.M.; Ogurtsov, K.A.; Lebedev, V.T.; Kulvelis, Yu.V.; Török, Gy.; Sokolov, A.E.; Trunov, V.A.; Bakhmetyev, V.V.; Kotomin, A.A.; Dushenok, S.A.; Kozlov, A.S. *Semiconductors*, **2012**, 46(5), 696-700.

20. Sychova, A.; Solomahin, A.; Hitrov, A. *Procedia Engineering*, **2017b**, 189, 688-694. doi: 10.1016/j.proeng.2017.05.109

21. Sychova, A.; Sychov, M.; Rusanova, E. A. *Procedia Engineering*, **2017a**, 189, 681-687. doi: 10.1016/j.proeng.2017.05.108

22. Sychova, A.M.; Solomahin, A.; Kotovich, V.; Svatovskaya, L.B.; Kamenev, Y. *E3S Web of Conferences*, **2018**, 33, 02058. https://www.e3s-conferences.org/articles/e3sconf/abs/2018/08/e3sconf_hrc2018_02058/e3sconf_hrc2018_02058.html, accessed July 2018.

23. Sychova, A.M.; Svatovskaya, L.B.; Mjakin, S.V.; Vasiljeva, I.V. *Electron Beam Modification of Solids: Mechanisms, Common Features and Promising Applications*, New York: Nova Science Pub Inc., 2009a, 35-37.

24. Sychova, A.M.; Svatovskaya, L.B.; Mjakin, S.V.; Vasiljeva, I.V. *Electron Beam Modification of Solids: Mechanisms, Common Features and Promising Applications*, New York: Nova Science Pub Inc., 2009b, 39-47.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 1. *Silica sol properties and technologies for geoconstruction*

The name of silica sol technology	The principle of the technology based on the properties of silica sol
Silica sol detoxication technology for soils (SDT)	Reactions like (Equation 1)
Silica sol absorption technology (SAT)	Improvement of material surface properties due to silica sol use
Soil strengthening technology (SST)	Binding properties of silica gel through conversion: $SiO_2 \cdot nH_2O(sol) \rightarrow SiO_2 \cdot nH_2O(gel)$
Silica sol blocking action technology (SBT), or the "lithosafe"	The use of an artificial stone as a safe for absorbed pollutions from lithosphere and then their blocking by silica sol screen

Table 2. *Water loss in the sediments*

Sediments of the reactions between silica sol and heavy metal ions in the model aqueous extract of the polluted soil		Mol mass of ions, g	Water loss,%	Color of the sediment
silica sol	ions			
$SiO_2 \cdot nH_2O$	-	-	11,74	white
$SiO_2 \cdot nH_2O$	Ca(II)	40	25,02	white
$SiO_2 \cdot nH_2O$	Cu(II)	63,5	9,0	turquoise
$SiO_2 \cdot nH_2O$	Co(II)	59	7,78	blue
$SiO_2 \cdot nH_2O$	Ni(II)	58,7	12,5	green
$SiO_2 \cdot nH_2O$	Pb(II)	207,2	9,89	white

Table 3. *The material consumption for foam concrete*

Density	Material consumption, per/m³						Water cement	Flowability of the mix, cm.
	Cement	Sand	Water	Additive	Volume of foam	Water in foam		
400	160	160	67	2,64	820	68	0,84	32
500	210	210	86	2,49	763	62	0,7	28
600	260	259	104	2,33	712	58	0,62	24

Table 4. *The improvement of foam concrete properties using sol absorption technology (SAT)*

Density of foam concrete, kg/m³	Change of foam concrete properties, %; after 28 days*			
	Compressive strength, +Δ%	Hardness, +Δ%	Frost resistance, cycles, +Δ%	Water absorption, -Δ%
400	10-15	30	10-25	65
500	10-15	40	10-25	60
600	15-20	50	10-25	60

*the test was done according to the Russian state standards. 100% – for the foam concrete check specimens in 28 days.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 5. *Results of the study of new technologies for geoconstruction*

New technologies	New technologies' results	New technologies' application in geoconstruction
Silica sol detoxication technology (SDT)	Reaction between heavy metal ions and SiO_2 nH_2O	Detoxication of heavy metal ions in soils
Silica sol absorption technology (SAT) after concrete hardening	Decrease in water absorption and an increase in concrete hardness	Both blocking salt efflorescence and environmental protection
Soil strengthening technology (SST)	Binding properties of silica gel due to sol→gel conversion	Strengthening a sandy soil, anti-dusting finely-pulverized particles. Soil strength is ≈0,1-0,2 MPa
Silica sol blocking action technology (SBT)	Formation of the protective surface screen on concrete polluted by oil products	Prevention of oil pollution extraction from a stone into the environment due to the surface screen which is ≈2-4 mm sick

Table 6. *Qualitative express method of heavy metal ion pollution identification in geoconstruction*

Heavy metal ions in the soil (aqueous extract)	Level of pollution, number of TC	Colour of the gelling sediments according to silica sol reaction
Cu(II)	1000-2000	turquoise
Fe(II)	1000-2000	rust
Ni(II)	1000	light green
Pb(II)	≈2000	white
Cd(II)	≈2000	white

$$Me^{2+}+SiO_2 \cdot nH_2O+2OH^- \rightarrow MeO \cdot SiO_2 \cdot nH_2O+H_2O \quad \text{(Eq. 1)}$$
$$\Delta G^0_{298}<0$$

$$Me^{2+}+SiO_2 \cdot 2H_2O+4OH^- \rightarrow MeO \cdot SiO_2 \cdot 2H_2O\downarrow+Me(OH)_2\downarrow+H_2O, \quad \text{(Eq. 2)}$$
$$\Delta G^0_{298}<0$$

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

UTILIZAÇÃO DO EXTRATO DE ASTAXANTINA NA TECNOLOGIA DA PRODUÇÃO DE SALSICHAS COZIDAS COM BAIXO CONTEÚDO DE NITRITO DE SÓDIO

ASTAXANTHIN EXTRACT UTILIZATION IN THE TECHNOLOGY OF PRODUCING COOKED SAUSAGES WITH A LOW CONTENT OF SODIUM NITRITE

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭКСТРАКТА АСТАКСАНТИНА В ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ВАРЕНЫХ КОЛБАС С ПОНИЖЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ НИТРИТА НАТРИЯ

VELIYEVA, Aysel S.*; KADNIKOVA, Irina A.; KALENIK, Tatyana K.

Far Eastern Federal University
8 Sukhanov Str., 690091 Vladivostok, Russian Federation

** Corresponding author*
ayselmay@mail.ru

Received 25 October 2018; received in revised form 29 November 2018; accepted 13 December 2018

RESUMO

A orientação prioritária no desenvolvimento da tecnologia de produtos cárneos é o desenvolvimento de receitas para salsichas cozidas com baixo teor residual de nitrito de sódio. A busca por substâncias de origem natural capazes de influenciar a formação da cor das salsichas cozidas e realizar propriedades antioxidantes é uma tarefa urgente atualmente.Na prática apresentada, foi utilizado um extrato de astaxantina da produção industrial (China). A atividade antioxidante do extrato de astaxantina foi traçada pelo método DPPH (2, 2-difenil-1-picrilhidrazila) a 517 nm com o espectrofotômetro Shimadzu UV-1800. O teor de mioglobina foi determinado a partir da densidade óptica do extrato de pigmento de salsicha cozida, obtido após extração com uma solução aquosa de acetona, no comprimento de onda de 540 nm.A astaxantina em concentrações de 0,08 e 0,1% afetou positivamente o processo de formação de cor e a preservação de gorduras na fórmula de carne de salsichas cozidas. Foi determinado que, antes da administração à fórmula de carne, o extrato de astaxantina deveria ser dissolvido em óleo vegetal e deixado por 3 horas à temperatura ambiente. Assim, seu espaçamento uniforme sobre o recheio (recheio) é alcançado sem a formação de “manchas vermelhas”.A astaxantina é bastante estável em fórmulas de carne e dá aos produtos de carne cozida uma cor rosa familiar. É determinado que o extrato de astaxantina é recomendado para uso na tecnologia de salsichas cozidas em concentrações de 0,08-0,1% para a massa do recheio de carne.

Palavras-chave: astaxantina, carotenoides, salsichas cozidas, nitrito de sódio.

ABSTRACT

The priority direction for the development of meat products technology is the development of recipes for cooked sausages with low residual sodium nitrite content. The search for substances of natural origin capable of influencing the formation of the cooked sausages color and exercising antioxidant properties is an urgent task today. In the submitted practice, an extract of astaxanthin of industrial production (China) was used. The antioxidant activity of the astaxanthin extract was traced by the DPPH method (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) at 517 nm with the Shimadzu UV-1800 spectrophotometer. The content of myoglobin was determined from the optical density of the cooked sausage pigment extract, obtained after extraction with an aqueous solution of acetone, at a wavelength of 540 nm.Astaxanthin in concentrations of 0.08 and 0.1% positively affected the process of color formation and the preservation of fats in the meat formula of cooked sausages. It was determined that, before administration to the meat formula, the extract of astaxanthin should be dissolved in vegetable oil and left for 3 hours at room temperature. Thus, it's uniform spacing over the stuffing (forcemeat) is achieved without the formation of “red spots”. Astaxanthin is quite stable in meat formulas and gives the cooked meat products a familiar pink color. It is determined that the extract of astaxanthin is recommended for use in the technology of cooked sausages in concentrations of 0.08-0.1% to the mass of the forcemeat.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Keywords: astaxanthin, carotenoid, cooked sausages, sodium nitrite.

АННОТАЦИЯ

Приоритетным направлением развития технологии мясных продуктов является разработка рецептур вареных колбас с пониженным остаточным содержанием нитрита натрия. Поиск веществ природного происхождения. Способных влиять на формирование цвета вареных колбасных изделий и проявлять антиоксидантные свойства, является актуальной задачей. В работе был использован экстракт астаксантина промышленного производства (Китай). Антиоксидантную активность экстракта астаксантина определяли методом cDPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразин) при 517 нм на спектрофотометре Shimadzy UV-1800. Содержание миоглобина определяли по оптической плотности экстракта пигментов вареной колбасы, полученного после экстракции водным раствором ацетона, при длине волны 540 нм. Астаксантин в концентрации 0,08 и 0,1 % положительно влияет на процесс цветообразования и сохранность жиров в пищевой системе вареных колбас. Установлено, что перед введением в пищевую систему экстракт астаксантина следует растворять в растительном масле и оставлять на 3 часа при комнатной температуре. Так достигается его равномерное распределение по фаршу без образования «красных точек». Астаксантин достаточно устойчив в мясных пищевых системах и придает мясным вареным изделиям привычный для потребителя розовый цвет. Установлено, что экстракт астаксантина рекомендуется использовать в технологии вареных колбас в концентрациях 0,08-0,1% к массе фарша.

Ключевые слова: астаксантин, каротиноидный пигмент, вареные колбасы, нитрит натрия.

INTRODUCTION

An increasingly important trend in the technology of meat products is the development of the technology of meat products with the lower residual content of nitrite (Antipova *et al*., 2013). The danger of nitrite entering the human body is associated with its nephrotoxic effect, with the emergence of methemoglobinemia and the formation of carcinogenic nitrite compounds (Antipova *et al*., 2013). For human safety, it is very important to ensure a minimum of residual nitrite in the product, since it has a biological effect on the human body.

Nitrite of sodium (or potassium nitrite) plays an important role in the coloration of meat products. It gives the prepared, processed meat products a color that is close to the color of natural meat, which determines their consumer features. Along with the simultaneous participation in the color formation reaction, sodium nitrite performs a number of technological functions: it participates in the process of formation of taste and aromatic characteristics of salted raw materials, has a pronounced inhibitory effect on some microorganisms, and exercises the antioxidant action against lipids (Antipova *et al*., 2013).

It is known that astaxanthin is one of the most powerful antioxidants found in nature (Jyotika *et al*., 2012; Youstry, 2000). The sources of this dark red carotenoid pigment are green algae (*Haematococcus pluvialis*), red yeast fungi (*Phaffia rhodozyma*), plants, as well as fish and seafood (salmon, shrimp, and lobster) (Ambati, 2014). It positively affects human health, helps with the treatment and prevention of oncology, diabetes, diabetic nephropathy, metabolic syndrome, gastrointestinal tract diseases, liver, eyes, chronic fatigue syndrome, male infertility, renal insufficiency, etc. (Yamashita, 2013; Karppi *et al*., 2007). The astaxanthin extract also positively affects the meat formula, being integrated into; it ensures the preservation of fats due to its high antioxidant activity (Martínez-Delgado *et al*., 2016).

The purpose of this work is to investigate the opportunity of utilization of astaxanthin of natural origin in the technology of cooked sausages with a low content of sodium nitrite.

MATERIALS AND METHODS

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

An extract of astaxanthin of industrial production (China) was used. The extract was produced industrially on January 2, 2017, batch no. 17010272, and batch weight - 500 kg, expiration date - before January 2, 2019. The extract was stored in a vacuum package. The extract safety parameters are shown in Table 1.

Antioxidant activity of the astaxanthin extract was determined by the DPPH method (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Khasanov *et al.*, 2004). The optical density of the solution was traced at 517 nm with the Shimadzu UV-1800 spectrophotometer. To determine anti-radical activity, a calibration curve was constructed that reflects the % - antioxidant activity, depending on the concentration of ascorbic acid.

Myoglobin content was determined from the optical density of the extract pigments of cooked sausage, obtained after extraction with an aqueous acetone solution, at a wavelength of 540 nm (GOST 25011-81). Solutions with known concentrations have a certain optical density. A calibration curve of the concentration versus optical density was plotted by Sigma myoglobin. The optical density for the calibration and for the solutions studied was determined with the Shimadzu UV-1800 spectrophotometer.

According to standard GOST practices, the following parameters were determined: protein, fat, salt, residual nitrite, humidity, acid, peroxide value, and also microbiological indexes. Methodic data are given in Table 2.

RESULTS AND DISCUSSION

The magnitude of antiradical activity was attributed to the amount of mg of ascorbic acid (according to the results of the calibration curve plotted against the %-antiradical activity of ascorbic acid concentration). Various solvents were used in the experiment: hexane, ethanol, distilled water, benzene, isopropanol, and deodorized vegetable soya oil. Antioxidant activity data are presented in Table 3.

Of the data presented, it is evident that the extract of astaxanthin shows maximum antioxidant activity when dissolved in fats, namely in vegetable oil, and is partially active when dissolved in hexane, benzene, isopropanol. It does not dissolve in distilled water and ethanol and does not exhibit anti-radical properties. The extract of astaxanthin was utilized in the technology of “Asta” cooked sausages, reducing the content of salting mixture with sodium nitrite by 2 times. “Doktorskaya” sausage cooked according to the GOST R 52196-2003 standard was used as a control sample (Boiled sausage products…). The extract was used in four concentrations: 0.04%, 0.06%, 0.08%, and 0.1% to the mass of minced meat. The meat formula of sausages is presented in Table 4.

Primary raw meat materials were crushed to a size of pieces of 16-25 mm and salted down for 10 hours with a mixture of curing salt and edible salt at a temperature of 2±2 °C. Minced meat for cooked sausages was prepared in a cutter in two stages.

At the first stage of cutting, raw low-fat meat materials, Optispice GOST “Doktorskaya” functional mixture, water and/or ice and premixed egg powder are added to the cutter. The extract of astaxanthin had to be dissolved in vegetable oil at room temperature 3 hours prior to administration into the meat formula. In the second stage, semi-fat pork was added; in order to achieve uniform spacing, the extract was added along with the fatty meat material. Lexolan polyamide barrier casing was used during the sausage forming process. Samples were cooked at 80 °C to the internal (measured in the midst of baloney) temperature of 72 °C, with the ageing of 5 minutes. The technological scheme for the production of cooked sausages with astaxanthin is shown in Figure 1.

In processed sausage products, the color characteristics were carried out in accordance with GOST R 52196-2011 “Cooked sausage products” ((Antipova *et al.*, 2014). The results are shown in Table 5.

It should be noted that at the end of the expiration date, in the samples of “Asta” 0.04% and “Asta” 0.06%, gray spots appear on cut-off sites, which indicates a loss of color. Also, the intensity of the color of cooked sausages was assessed by the content of myoglobin (GOST 25011-81). Data on the myoglobin content in the samples within the 35 days of storage are shown in Table 6.

The parameter closest in value to the control sample was a sample containing an extract of astaxanthin of 0.1%. The cooked sausage “Asta” with the content of the extract of astaxanthin of 0.08% also had a stable and natural color. The physicochemical parameters of

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

the cooked sausages quality are presented in Table 7.

Sodium nitrite in sausage products technology acts not only as a color former; it is also used as a preservative. It is known that cooked sausages have a lot of fat (up to 20%) in composition. To determine the quality and preservation of fat during storage, peroxide (GOST 9793-74) and acid (GOST 54346-2011) values of “Asta” cooked sausages and a control sample were determined by standard methods, that show the changes of the fat quality in sausages during storage - namely whether oxidation and rancidification of fat are occurring. Data on the peroxide and acid values are presented in Table 8.

From this table, it can be seen that samples with an astaxanthin extract content of 0.08% and 0.1% are more stable during storage. There is a direct correlation between the content of astaxanthin and the oxidation of lipids.

Microbiological safety indicators of cooked sausages are standardized by the Customs Union Technical Regulation 021/2011 “On the safety of food products” and the Customs Union Technical Regulation 034/2013 “On the safety of meat and meat products”. Microbiological parameters of “Asta” series cooked sausages during storage are given in Table 9.

Sulphite-reducing Clostridia, S.aureus, Pathogenic and/or Salmonella, and L.monocetogenes were not detected in cooked sausages of the “Asta” series during storage.

CONCLUSIONS:

According to researches outcome, it is possible to draw a conclusion to recommend the utilization of astaxanthin extract in the technology of cooked sausages in concentrations of 0, 08% and 0, 1% to the weight of forcemeat.

Astaxanthin positively affects the preservation of fats in the meat formula of cooked sausages and does not impart an extraneous taste to sausage products that acquire a beautiful pink color. And it is quite stable in the samples of “Asta” 0.08% and “Asta” 0.1%.

The extract of astaxanthin should be dissolved in vegetable oil and left for 3 hours at room temperature prior to administration to the meat formula. This is the best way to achieve uniform spacing over the stuffing (forcemeat) without the formation of “red spots”. It is also worth noting that immediately after cooking, the products have a bright pink color, which becomes slightly less intense after cooling.

REFERENCES:

1. Ambati, Randa Rao; Phang, Siew Moi; Astaxanthin: Sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications - a review, *Marine drugs* **2014**, 12, 128.
2. Antipova, L. V.; Glotova, I.; Rogov, I. A.; *Methods for the study of meat and meat products*, Kolos: Moscow, 2014.
3. Antipova, L. V.; Tolpygina, I. N.; Kalachev, A. A.; *Technology and equipment for the production of sausages and semi-products,* GIORD: St. Petersburg, 2013.
4. *Boiled sausage products. Technical specifications: GOST 52196-2003, Intr. 2005-01-01.* Available at: http://docs.cntd.ru/document/120003615, Accessed on 20/12/2017.
5. *Customs Union Technical Regulation 021/2011 “On the safety of food products”, administrative action of 09.12.2011 No. 880.* Available at: http://docs.cntd.ru/document/902320560. Accessed on 20/12/2017.
6. *Customs Union Technical Regulation 034/2013 “On the safety of meat and meat products”, administrative action of 09.10.2013 No. 68.* Available at: http://docs.cntd.ru/document/499050564. Accessed on 20/12/2017.
7. *Food products. Methods for detecting and determining the amount of Coagulase-positive staphylococci and Staphylococcus aureus: GOST 52815-2007, Intr. 2009-01-01.* Available at: http://docs.cntd.ru/document/120006949. Accessed on 20/12/2017.
8. *Food products. Methods for detecting and determining the number of bacteria of the coliform group: GOST 31747-2012, Intr. 2013-07-01.* Available at: http://docs.cntd.ru/document/120009858. Accessed on 20/12/2017.
9. *Food products. Methods for determining*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

the amount of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms: GOST 10444.15-94, Intr. 1996-01-01. Available at: http://docs.cntd.ru/document/1200022648. Accessed on 20/12/2017.

10. *Food products. Methods for the detection of Listeria monocytogenes bacteria: GOST 32031-2012, Intr. 2014-07-01.* Available at: http://docs.cntd.ru/document/120010531. Accessed on 20/12/2017.
11. *Food products. Methods for the detection of Salmonella genus bacteria: GOST 31659-2012, Intr.2013-07-01.* Available at: http://docs.cntd.ru/document/1200098239. Accessed on 20/12/2017.
12. Jyotika, Dhankhar; Kadian, Sumita S.; Sharma, Asha; Astaxanthin: a potential carotenoid, *International Journal of pharmaceutical sciences and research* **2012**, 3 (5), 1246.
13. Karppi, Jouni; Rissanen, Tiina H.; Nyyssonen, Kristiina; Effects of astaxanthin supple-mentation on lipid peroxidation, *International journal for vitamin and nutritional research* **2007**, 77(1) 3.
14. Khasanov, V. V.; Ryzhkov, G. L.; Malceva, E. V.; Methods of the study of antioxidants, *Chemistry of plant raw materials* **2004**, 3, 63.
15. Martínez-Delgado, A. A.; Khandual, S.; Villanueva-Rodríguez, S. J.; Chemical stability of astaxanthin integrated into a food matrix: Effects of food processing and methods for preservation, *Food Chemistry* **2016**, 225, 23.
16. *Meat and meat products. Determination of the mass fraction of chlorides. The Folgard's Method: GOST 51480-99, Int. 2001-01-01.* Available at: http://docs.cntd.ru/document/1200028187. Accessed on 20/12/2017.
17. *Meat and meat products. Method for determination of nitrite content: GOST 29299-92, Intr. 1994-01-01.* Available at: http://docs.cntd.ru/document/120002168. Accessed on 20/12/2017.
18. *Meat and meat products. Method for determination of peroxide value: GOST 54346-2011, Intr. 2012-07-01.* Available at: http://docs.cntd.ru/document/120008579. Accessed on 20/12/2017.
19. *Meat and meat products. Method for determining acid number: GOST 55480-2013, Intr. 2014-07-01.* Available at: http://docs.cntd.ru/document/120010331/ Accessed on 20/12/2017.
20. *Meat and meat products. Methods for determining fat content: GOST 23042-2015, Int. 2017-01-01.* Available at: http://docs.cntd.ru/document/1200133107
21. *Meat and meat products. Methods for determining the protein content: GOST 25011-81, Intr. 1983-01-01.* Available at: http://docs.cntd.ru/document/gost-25011-81. Accessed on 20/12/2017.
22. *Meat Products. Methods for moisture determination: GOST 9793-74, Intr. 1975-01-01.* Available at: http://docs.cntd.ru/document/901712025. Accessed on 20/12/2017.
23. *Microbiology of food and animal feed. Methods for the detection and counting of sulfite-reducing bacteria growing under anaerobic conditions: GOST 29185-2014, Intr. 2016-01-01.* Available at: http://docs.cntd.ru/document/1200119547. Accessed on 20/12/2017.
24. Yamashita, Eiji; Astaxanthin as a Medical Food, *Functional foods in health and Disease* **2013**, 3(7), 254.
25. Youstry, M. A. Naguib; Antioxidant Activities of Astaxanthin and Related carotenoids, *Food chemistry* **2000**, 48, 1150.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

***Table 1**. Astaxanthin extract safety parameters*

Parameters	Results
Extractants utilized in extract production	Water and ethanol 45 - 55 mg/100 ml
Dry extract substancemoisture	3.07%
Solvent-Extractant ratio for extract production	10:1
Arsenic and heavy metals	Zero
E.coli	Zero
S.aureus in 1.0 g	Zero
- QMAFAnM, CFU/G	$1*10^3$
- Yeast and Mold, CFU/G /g	$1*10^2$

***Table 2.** Determination methodic for physicochemical and microbiological parameters of' "Asta" cooked sausages*

Parameter	State Standard
Protein content	GOST 25011-81
Fat content	GOST 23042-2015
Table salt content	GOST R 51480-99
Sodium nitrite content	GOST 29299-92
Acid value	GOST R 55480-2013
Peroxide value	GOST R 54346-2011
Moisture content	GOST 9793-74
QMAFAnM	GOST 10444.15-94
Escherichia coli group bacteria – CGB	GOST 31747-2012
Sulphite-reducing *Clostridia*	GOST29185-2014
S.aureus	GOST 31746-2012
Salmonella	GOST 31659-2012
L.monocetogenes	GOST 32031-2012

***Table 3.** Study of antioxidant activity of astaxanthin by the DPPH method*

Solvent	Hexane	Benzene	Isopropanol	Water	Vegetable oil	Ethanol
Antioxidant (antiradical) activity of astaxanthin per 1 g of substance / mg	13.63±2.04	14.65±1.7	18.13 ±1.02	-	66.5±7.1	-
EC,50% , mg	0.191 ±0.001	0.179 ±0.015	0.171±0,02	-	0.042±0.002	-

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 4. *The meat formula of cooked sausages per 100 kg of primary raw materials, kg*

Primary raw material	"Doktorskaya" GOST	"Asta" 0.04%, kg	"Asta" 0.06 %, kg	"Asta" 0.08%, kg	"Asta" 0.1%, kg
Beef, Grade A	25	25	25	25	25
Pork, Grade A	25	25	25	25	25
Pork, Semi-Fat	45	45	45	45	45
Egg powder	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
Egg powder/Water	2.1	2.1	2.1	2.1	2.1
Protelak Mfunctional mix	2	2	2	2	2
Salt	0.91	1.4	1.4	1.4	1.4
Sugar	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Curing salt	1.19	0.595	0.595	0.595	0.595
Optispice functional mix, "Doktorskaya" GOST	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4
Water/ice	30	29.8	29.7	29.65	29.57
Astaxanthin extract	-	0.053	0.080	0.107	0.133
Vegetable oil	-	0.15	0.2	0.250	0.300

Table 5. *Color characteristics of cut-off samples of the "Asta" and "Doktorskaya" GOST cooked sausages*

Storage time	Control sample ("Doktorskaya" GOST)	"Asta" 0.04%	"Asta" 0.06%	"Asta" 0.08%	"Asta" 0.1%
1 day	Pink	Light-pink	Light-pink	Pink	Rich-pink
10 days	Pink	Pale-pink	Light-pink	Pink	Rich-pink
20 days	Pink	Gray-pink	Light-pink	Pink	Rich-pink
30 days	Pink	Gray	Pale-pink	Pink	Pink
35 days	Pink	Gray	Gray-pink	Light-pink	Pink

Table 6. *Myoglobin content in samples at different storage times (mg/1 g of sample)*

Storage time (days)	Control sample ("Doktorskaya" GOST)	"Asta" 0.04%	"Asta"0.06%	"Asta" 0.08%	"Asta" 0.1%
1	4.26±0.12	3.03±0.08	3.49±0.06	3.7±0.06	4.22±0.06
10	4.37± 0.15	3.09±0.08	3.63±0.09	3.91±0.09	4.31±0.09
20	4.49±0.19	3.14±0.09	3.78±0.13	4.12±0.13	4.42±0.13
30	4.56±0.21	3.25±0.09	3.84±0.17	4.25±0.17	4.53±0.17
35	4.62±0.3	3.31 ±0.1	3.92 ±0.2	4.36 ±0.2	4.59 ±0.2

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 7. *Physico-chemical parameters of cooked sausage "Asta" and a control sample of "Doktorskaya"*

Parameters	Control sample ("Doktorskaya")	"Asta" 0.04%	"Asta" 0.06%	"Asta" 0.08%	"Asta" 0.1%
Protein content, %	11	10.9	10.9	10.9	11
Fat content, %	17.5	17.6	17.6	17.7	17.8
Table salt content, %	2.1	2.0	2.0	2.0	2.0
Moisture, %	68.1	67.8	67.7	68.2	68.3
Residual sodium nitrite content, %	0.0031±0.0002	0.0015±0.0002	0.0015±0.0002	0.0015±0.0002	0.015±0.0002

Table 8*. Acid and peroxide values of sausage products during storage*

Parameters	Standard by legal requirements	Storage time (days)	Control sample ("Doktorskaya")	"Asta" 0.04%	"Asta" 0.06%	"Asta" 0.08%	"Asta" 0.1%
Acid value, mg, CFU/G /g, not more than	4.0	1	1.6	1.9±0.2	2.2±0.2	2.0±0.2	1.7±0.2
		15	1.9	2.4±0.2	2.2±0.2	2.0±0.2	1.9±0.2
		30	2.1	3.5±0.1	2.8±0.3	2.3±0.3	2.2±0.2
		35	2.2	3.8±0,1	3.0±0.2	2.4±0.2	2.3±0.2
Peroxide value, mole of active O2 / kg, not more than	10.0	1	2.5	4.8 ±0,1	3.3±0.1	2.5±0.2	2.3±0.2
		15	5.5	8.3±0,2	7.2±0.2	5.3±0.2	4.7±0.2
		30	7.0	**11.9 ±0.2**	**10.6±0.2**	7.7±0.2	6.7±0.3
		35	7.2	**12.5±0.2**	**11.2±0.2**	8.1±0.2	6.8±0.2

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 9. *Microbiological parameters of the "Asta" series cooked sausages during storage*

Parameters	MPC, standard	Storage time (days)	"Asta" 0.04%	"Asta" 0.06%	"Asta" 0.08%	"Asta" 0.1%
QMAFAnM, CFU/G /g	Not more than $1*10^3$	1	$3*10^1$	$2*10^1$	$1.9*10^1$	$1*10^1$
		15	$1*10^2$	$1*10^2$	$5*10^1$	$3*10^1$
		30	$8*10^2$	$8*10^2$	$5*10^2$	$2*10^2$
		35	**$4.8*10^3$**	**$3*10^3$**	$8*10^2$	$3*10^2$
Escherichia coli group bacteria – CGB in 1.0 g	Not allowed	1	N/d	N/d	N/d	N/d
		15	N/d	N/d	N/d	N/d
		30	N/d	N/d	N/d	N/d
		35	N/d	N/d	N/d	N/d
Sulphite-reducing *Clostridia* in 0.1 g	Not allowed	1	N/d	N/d	N/d	N/d
		15	N/d	N/d	N/d	N/d
		30	N/d	N/d	N/d	N/d
		35	N/d	N/d	N/d	N/d
S.aureusin 1.0 g	Not allowed	1	N/d	N/d	N/d	N/d
		15	N/d	N/d	N/d	N/d
		30	N/d	N/d	N/d	N/d
		35	N/d	N/d	N/d	N/d
Pathogenic, incl. *Salmonella* in 25 g	Not allowed	1	N/d	N/d	N/d	N/d
		15	N/d	N/d	N/d	N/d
		30	N/d	N/d	N/d	N/d
		35	N/d	N/d	N/d	N/d
- *L.monocetogenes* in 25 g	Not allowed	1	N/d	N/d	N/d	N/d
		15	N/d	N/d	N/d	N/d
		30	N/d	N/d	N/d	N/d
		35	N/d	N/d	N/d	N/d

* n/d – not detected

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

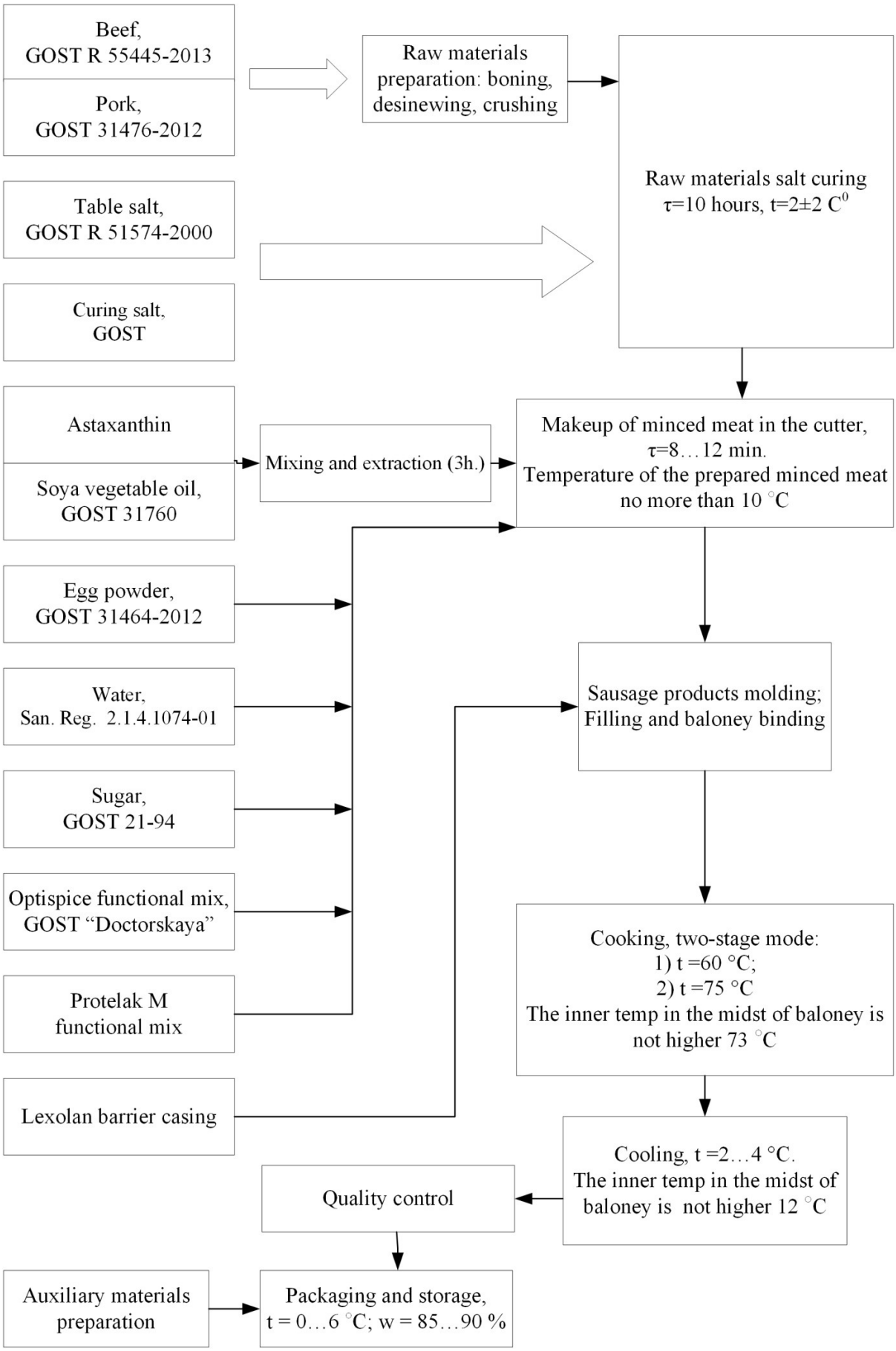


***Figure 1**. Technological scheme for the production of cooked sausages with astaxanthin*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

CINÉTICA DA IMPREGNAÇÃO DE POLÍMEROS POR TRIALQUILAMINA

KINETICS OF POLYMER CARRIER IMPREGNATION BY TRIALKYLAMINE

КИНЕТИКА ИМПРЕГНИРОВАНИЯ ПОЛИМЕРНОГО НОСИТЕЛЯ ТРИАЛКИЛАМИНОМ

TROSHKINA, I. D.[2*]; OBRUCHNIKOVA, J. A.[2]; VESELOVA, O. A.[2]; PESTOV, S. M.[1]

[1]Dmitry Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, Department of Expert Examination in Drug Testing and Narcoanalysis
20 Geroyev Panfilovtsev St., Moscow, 125480, Russian Federation

[2]Moscow Technological University, Department of Physical Chemistry
86 Vernadsky Ave., Moscow, 119454, Russian Federation

** Corresponding author*
tid@rctu.ru

Received in 20 September 2018; received in revised form 02 December2018; accepted 13 December 2018

RESUMO

O imediatismo do problema em estudo deve-se à falta de dados sobre a cinética de impregnação de transportadores de polímeros com agentes de extração. O objetivo deste artigo é obter as características cinéticas da impregnação de um transportador macroporoso polimérico - uma resina catiônica fracamente ácida com grupos carboxila - com trialquilamina e suas soluções em acetona. As curvas cinéticas integrais da adsorção do agente extrator no transportador foram obtidas. Isso permitiu estimar o tempo de equilíbrio pelo método de volume de solução limitado. Esse tempo foi de 25 a 30 horas, diminuindo com a aplicação de um agente de diluição e com o aumento da temperatura. As características cinéticas de impregnação foram calculadas por meio dos modelos de pseudo-segunda ordem, Elovich e difusão interna. O modelo de pseudo-segunda ordem descreve os dados cinéticos experimentais com alto grau de correlação (R^2 0,995-0,997) e aponta que a interação com dois centros de sorção possivelmente ocorre com a adsorção de uma única molécula de trialquilamina. As constantes de taxa de impregnação através de um agente de extração foram calculadas usando todos os modelos cinéticos. Com base na magnitude da energia de ativação aparente (37 ± 14 kJ/mol), pode-se assumir que a difusão é o passo limitante do processo de impregnação. Este artigo pode ser útil para criar impregnados contendo agentes de extração de várias classes.

Palavras-chave: cinética, impregnação, transportador polimérico macroporoso, trialquilamina, modelos cinéticos.

ABSTRACT

The immediacy of the problem under study is due to the lack of data on the kinetics of polymer carrier impregnation with extraction agents. The article is aimed at obtaining the kinetic characteristics of the impregnation of a polymeric macroporous carrier—a weakly acidic cation resin with carboxyl groups—with trialkylamine and its solutions in acetone. The integral kinetic curves of the extraction agent adsorption on the carrier were obtained. This allowed estimating the time of equilibrium by the limited solution volume method. This time was 25-30 hours, decreasing with the application of a dilution agent and with the increase in temperature. The kinetic impregnation characteristics were calculated by means of the pseudo-second-order, Elovich, and internal diffusion models. The pseudo-second-order model describes the experimental kinetic data with a high correlation degree (R^2 0.995-0.997) and points out that interaction with two sorption centres possibly takes place with the adsorption of a single trialkylamine molecule. The impregnation rate constants via an extraction agent were calculated using all kinetic models. Based on the apparent activation energy magnitude (37±14 kJ/mol), it can be assumed that diffusion is the rate-limiting step of the impregnation process. This article can be useful for creating impregnates containing extraction agents of various classes.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Keywords: kinetics, impregnation, macroporous polymeric carrier, trialkylamine, kinetic models.

АННОТАЦИЯ

Актуальность исследуемой проблемы обусловлена отсутствием данных по кинетике импрегнирования (пропитывания) экстрагентами полимерных носителей. Статья направлена на получение кинетических характеристик импрегнирования полимерного макропористого носителя – слабокислотного катионита с карбоксильными группами триалкиламином и его растворами в ацетоне. Методом ограниченного объема раствора получены интегральные кинетические кривые адсорбции экстрагента на носителе, позволяющие оценить время установления равновесия. Это время составило 25–30 ч, уменьшаясь при использовании разбавителя, а также повышении температуры. С помощью моделей псевдо-второго порядка, Еловича и внутренней диффузии рассчитаны кинетические характеристики процесса импрегнирования. Модель псевдо-второго порядка, по которой экспериментальные кинетические данные описываются с высокой степенью корреляции (R^2 0,995–0,997), указывает на то, что при адсорбции одной молекулы триалкиламина происходит, возможно, взаимодействие с двумя сорбционными центрами. Рассчитаны константы скорости импрегнирования экстрагентом при использовании всех кинетических моделей. Исходя из величины кажущейся энергии активации (37±14 кДж/моль), можно предположить, что скорость-лимитирующей стадией процесса импрегнирования является диффузия. Материалы статьи могут быть полезными при создании импрегнатов, содержащих экстрагенты различных классов.

Ключевые слова: кинетика, импрегнирование, макропористый полимерный носитель, триалкиламин, кинетические модели.

INTRODUCTION

Sorption and extraction processes are widely used for the recovery and concentration of elements. Sorption of the elements, usually from dilute solutions, is carried out with the use of synthetic resins, activated carbons, inorganic sorbents, fibres and other materials (Dragan, 2015; Free, 2013; Kabay *et al.*, 2010; Kauckzor and Meyer, 1978; Kosandrovich and Soldatov, 2012; Laskorin, 1989; Meretukov, 1980; Mukhin *et al.*, 2000; Myasoedova and Nikashina, 2006; Warshawsky, 1981; Warshawsky and Cortina, 2002; Zagorodni, 2007). Extraction agents — often in the form of a solution in an organic diluent — are applied for the liquid-phase extraction.

Sorption materials used in hydrometallurgy should have good kinetic characteristics. The time of establishing the sorption equilibrium during metal extraction via granular synthetic ion exchangers usually exceeds 4–6 hours. The fibrous ion exchangers possess the best kinetic properties, but the problems of instrumentation to use them are not completely solved at the moment.

Materials, whose properties are found between sorbents and extractants, are used for the extraction, separation, and concentration of elements. They are mainly obtained by means of impregnating the porous matrix with an extractant. Impregnated materials are called 'Solvent Impregnated Resins' (SIR). Polymeric carriers, ion exchangers, activated carbons, silica gel and other synthetic and natural materials are used as a porous matrix. The impregnates with the applied extractant are widely used in extraction chromatography.

In terms of density, bulk density, mechanical strength, the impregnates are similar to sorbents, and the mechanism of component extraction by the impregnates is similar to the extractive mechanism. The capacitive and kinetic characteristics of these materials are mainly determined by the porous structure, type, and state of the extraction agent in the matrix (Kabay *et al.*, 2010; Warshawsky and Cortina, 2002; Zagorodni, 2007).

The absence of a chemical bond between the extraction agent and the polymer matrix is a

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

characteristic feature of the impregnates. Due to the mobility of the liquid phase, these materials have improved kinetic characteristics.

The application of such materials makes it possible to exclude toxic and fire hazardous organic diluents provides means for carrying out the processes of extraction from non-clarified solutions and pulps and ensures the reduction of the contamination of raffinates and sewage waters with organic reagents in comparison with the liquid extraction.

The production method associated with the use of extractant solutions in an organic diluent, whose role consists in swelling and loosening the polymer base, has become the most widespread among the known methods of creating such materials.

The organic phase can either completely fill the carrier pores or be distributed over its surface in the form of a film, depending on the application technique and the amount of injected extractant (Meretukov, 1980).

The purpose of a carrier is the ability to tightly hold the mobile phase. In this respect, it must meet the following requirements: to be well wetted by mobile phase; to be chemically inert, not to react with the mobile phase, not to absorb the components being extracted; to have the particles of the same size and shape, better spherical, which contributes to the most uniform and reproducible column filling; to have a sufficient surface for the mobile phase, to be evenly distributed in the form of a thin film; to have sufficient mechanical strength.

The carriers may be divided into two main large groups.

The carriers, whose surface is covered with hydroxyl groups, belong to the first group. Such substances have high surface energy and can be well wetted by such strongly polar liquids as water only. This group includes mainly inorganic materials, such askieselguhrs, silica gels, glass, aluminum oxide, cellulose. Their general disadvantage lies in the fact that the hydroxyl groups themselves are capable of ion exchange. Besides, these carriers can retain a limited number of extractants only.

Various polymer materials that have low surface energy and are well wetted with various organic solvents may be referred to the second group.

The composition of various carriers and extractants is rather well studied, and the rationale for their choice is usually available. However, there is almost no information on the kinetics of carrier impregnation by an extractor determining and conditions of the impregnation the process. This paper aims to fill this gap.

The objective of this research is to define the kinetic impregnation characteristics of a polymeric macroporous carrier in case of impregnation with trialkylamineextractant-(TAA).

MATERIALS AND METHODS

Reagents. Technical TAA (R_3N) was used as an extractant, where R = C_nH_{2n+1}, n = 8-10, whose properties corresponded to those stated in TU 2413-003-48590531-2009. Acetone of chemically pure grade was used to prepare the TAA solution.

Spherically granulated, macroporous, weak-acid cation resin on an acryl-divinylbenzene base containing carboxyl groups (TU 2227-019-72285630-2009-2009) was used as a polymeric carrier. The size of its granules was (0.63÷1.6) mm.

*Methodology.*Impregnation of a polymer carrier was fulfilled by the limited solution volume method (Kokotov and Pasechnik, 1979) in excess of extractant or its solution in acetone under the static conditions. For that, a sample of the air-dried carrier (1 g) was put in contact with 2 ml of TAA or 4 ml of its solution in acetone (the ratio of TAA and acetone volumes was 1:1) with gentle mixing on the LAB-PU-01 shaking apparatus (30 rpm) for a certain time period. The impregnation time was from 10 to 1440 min. The carrier, saturated with the extractant, was transferred to the vacuum filter and washed with 10-15 cm^3 of distilled water upon the expiration of adsorption time. The drying of impregnating washed free of the excess of the extractant, was accomplished in a drying chamber at a temperature of 50 °C for 5 hours.

When studying the influence of temperature on the impregnation process, the carrier samples were in contact with TAA in a thermostated cell at a temperature of 50 °C (calibration error: ± 0.1 °C).

The TAA content in the impregnate was evaluated based on the difference in weight of the initial polymer and the obtained impregnate

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

(under equilibrium conditions) according to the following formula:

$$\omega = (m_{imp} - m_{ini})/ m_{imp} \bullet 100\ \%, \qquad \text{(Eq.1)}$$

where ω is the extractant mass fraction in the impregnate (%), $m_{imp}$is the impregnate weight (g); m_{ini} is the primary carrier mass (g).

The impregnation rate was estimated based on the behaviour of the impregnate sorption capacity in time. The process behaviour can be examined with the help of a metal. Rhenium was chosen for this purpose since TAA is widely used for its extraction, and the isotherm of sorption by the rhenium-based impregnate is linear in a wide range of the equilibrium concentrations of rhenium (Palant, 2015, p. 151).

Rhenium sorption by the impregnated samples, saturated during the above-mentioned period of time, was carried out from the sulfuric acid solutions (pH 2), containing 100 mg/dm^3 of rhenium, under static conditions. Prior to sorption, each impregnate sample was put in contact with a solution having the same pH value as the initial solution, prepared for the sorption. The time of contact was 30 min. The solution pH value was determined using SevenEasypH pH meter (Mettler Toledo). Then, the impregnate was separated from the solution and put in contact with the solution containing rhenium with a ratio of impregnate phases to solution of 1:1000 (0.1 g of sorbent: 100 cm^{3}of solution) on the LAB-PU-01 shaking apparatus (120 rpm) for 4 hours, or for 12 hours without shaking. The phase separation was performed, and the liquid phase was filtered through a 'white tape' filter after the contact. The resulting solution was analyzed for rhenium content by the photometric method with rhodanate complexes (Borisova and Ermakov, 1974) using the KFK-03-01 concentration photoelectric photometer (Experimental Optomechanical Plant, Russia). The impregnate sorption capacity (CE, mg/g) was calculated according to the balance ratio:

$$\mathrm{CE} = (C_{ini} - C_{con}) \bullet V_{sol}/g, \qquad \text{(Eq.2)}$$

where CE is the sorption capacity (mg/g); $C_{ini}$is the concentration in the initial solution (mg/l); C_{con} is the concentration in the solution after sorption (mg/l); V_{sol} is the solution volume (dm^3); g is the sorbent sample weight (g).

To process the kinetic data on TAA impregnation, the data on impregnate capacity of rhenium was used. These data were recalculated through the saturation degree F (%), which was determined by the following equation:

$$F = CE/C_{equal} \bullet 100, \qquad \text{(Eq.3)}$$

where CE_{equal} is the capacity of the rhenium impregnate being observed when the equilibrium is reached during the impregnation.

RESULTS AND DISCUSSION

Integral kinetic curves in the CE – t coordinates, where t is the impregnation time (Fig. 1), were obtained to determine the optimal impregnation time of the polymer carrier with TAA and its solution in acetone.

The data analysis in Fig. 1 shows that the equilibrium in the carrier/extractant system occurs after 25-35 hours. The presence of a diluent (acetone) contributes to an increase in the impregnation rate. In this case, the process of TAA diffusion into the carrier is accompanied by the process of polymer carrier swelling in the presence of acetone, which promotes the adsorption of its larger amount per unit time as compared with the original extractant diffusion.

The increase in the impregnation temperature (Fig. 2) also contributes to the increase in its rate.

Apparently, a decrease in the extractant viscosity also contributes to this.

Mathematical processing of the experimental kinetic data was performed in accordance with the models of sorption kinetics that describe the diffusion and the mechanism of interaction of various numbers of molecules in the process by means of linearizing them according to the following equations (Azizian, 2004; Foo and Hameed, 2010; Helfferich, 1962; Ho, 2006; Tran, *et al.*, 2017):

1. Pseudo-first-order model

$$lg(Qe - Qt) = lgQe - (k_1/(2.303t) \qquad \text{(Eq.4)}$$

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

2. Pseudo-second-order model

$$t/Qt = 1/(k_2 \cdot Qe^2) + 1/Qet \quad \text{(Eq.5)}$$

3. Internal diffusion model

$$Qt = k_{id} \cdot t^{0.5} + C \quad \text{(Eq.6)}$$

4. Elovich model

$$Qt = 1/\beta \cdot \ln(\alpha \cdot \beta) + 1/\beta \cdot \ln(t), \quad \text{(Eq.7)}$$

where *Qe* is the equilibrium sorption capacity (mg/g); *Qt* is the sorption capacity at time *t* (mg/g); $k_1(k_2)$ is the rate constant of the pseudo-first (pseudo-second) order (min^{-1}($g \cdot mg^{-1} \cdot min^{-1}$)); k_{id} is the internal diffusion rate constant ($mg \cdot g^{-1} \cdot min^{-0.5}$); α is the sorption process initial rate ($r \cdot mg^{-1} \cdot min^{-1}$); β is the Elovich rate constant ($r \cdot mg^{-1}$).

The graphical representation of the mathematical data processing results according to these models is presented in Fig. 3-6.

According to the correlation coefficient values, the kinetic impregnation curves can be best described with the pseudo-second-order model, the Elovich model, and the internal diffusion model.

Apparently, interaction with two sorption centres takes place during the adsorption of a single TAA molecule in accordance with the pseudo-second order model.

The Elovich model is used for the description of adsorption processes, so it can be assumed that the physical adsorption of the extractant on the carrier's inner and outer surfaces is a limiting stage while impregnating. The internal diffusion model suggests that the internal diffusion of TAA in the pores of the polymeric matrix can be one of the process limiting stages.

The velocity constants and the correlation factors of the linearized lines, describing the impregnation process for the selected models are presented in Table 1.

According to the constants values (Table 1) obtained while describing the integral kinetic curves according to the pseudo-second-order model equation, the impregnation rate increase is observed at a temperature effect. On the contrary, the injection of a diluent (acetone), reduces the TAA layer formation rate of the polymer carrier surface despite the fact that the extractant solution is less viscous in the diluent.

The value of apparent energy (E_{app}, kJ/mol) of the sorption activation was calculated from the dependence $\ln k = f(T^{-1})$, which follows from the Arrhenius equation. The calculation was based on the formula below, using the rate constants obtained when employing the pseudo-second-order equation:

$$E_{app} = (R \cdot \ln(k_1/k_2) \cdot T_1 \cdot T_2)/(T_2 - T_1) \quad \text{(Eq.8)}$$

where *R* is the universal gas constant (J/(mol•K)); k_1 and k_2 are the rate constants at a temperature T_1 and T_2, ($g \cdot mg^{-1} \cdot min^{-1}$); T_1 is the temperature (295 K); T_2 is the temperature (323K).

Based on the obtained value of the apparent activation energy (37±4 kJ/mol), it can be assumed that the diffusion is a rate-limiting stage of an impregnation process. The pseudo-second-order model, by which the experimental kinetic data is described with a high correlation degree (R^2 0.995-0.997), points out that the interaction with two sorption centres possibly takes place while the adsorption of a single TAA molecule is in progress.

CONCLUSIONS:

The kinetic data obtained by the limited solution volume method made it possible to determine the optimal impregnation time of a macroporous polymeric carrier with technical TAA, that is 25-35 h. The presence of a highly volatile diluent (acetone) contributes to the reduction of the extractant layer formation rate on the carrier surface, thereby decreasing the sorption characteristics over time. On the contrary, the temperature increase leads to the increase in the impregnation rate, since the extractant viscosity reduces without the injection of additional components of the organic phase (diluent). This can be confirmed by the rate

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

constants, calculated according to the data of linearized integral kinetic curves with the aid of a pseudo-second-order model.

The impregnation process takes place in the diffusion region since the apparent activation energy of the process is relatively low (37±4 kJ/mol). However, the kinetic data, described with a high degree of correlation by means of the pseudo-second order and Elovich models, is indicative of the contribution of TAA physical adsorption on the carrier and the possible interaction of the extractant molecule with two sorption centres of the carrier.

To shorten the impregnation time, it is reasonable to carry out the process of obtaining impregnates at an elevated temperature.

ACKNOWLEDGEMENTS:

This research was partially funded by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation under the Subsidy Agreement No. 14.580.21.0004 of 19.08.2015 (project identification number RFMEFI58015X0004).

REFERENCES:

1. Azizian, S.; *Journal of Colloid and Interface Science* **2004**, 276, 47.
2. Borisova, L. V.; Ermakov, A. N.; *Analytical chemistry of rhenium,* Khimiya: Moscow, 1974.
3. Dragan, E. S., ed.; *Advanced separations by specialized sorbents*, CRC Press: Boca Raton, 2015.
4. Foo, K. Y.; Hameed, B. H.; *Chemical Engineering Journal* **2010**, 156, 2.
5. Free, M. L.; *Hydrometallurgy. Fundamentals and applications*, John Wiley & Sons: Hoboken, 2013.
6. Helfferich, F.; *Ionites. Fundamentals of ion exchange,* Inostrannaya literatura: Moscow, 1962.
7. Ho, Y. S.; Review of second-order models for adsorption systems, *J. of Hazardous Materials* **2006**, B136, 681.
8. Kabay, N.; Cortina, J. L.; Trochimczuk, A.; Streat, M.; *React. Funct. Polym*. **2010**, 70(8), 484.
9. Kauckzor, H. W.; Meyer, A.; *Hydrometallurgy* **1978**, 3, 65.
10. Kokotov, Yu.A.; Pasechnik, V. A.; *Ion exchange equilibrium and kinetics,* Khimiya: Leningrad, 1979.
11. Kosandrovich, E. G.; Soldatov, V. S.; Fibrous Ion Exchangers; Inamuddin; Luqman, M., eds.; *Ion Exchange Technology I: Theory and Materials,* Springer Science+Business Media B.V., 2012, 299.
12. Laskorin, B. N., ed.; *Ion-exchange materials for hydrometallurgy, waste-water treatment and water conditioning processes*, All-Russian Scientific Research Institute of Chemical Technology: Moscow, 1989.
13. Meretukov, M. A.; Application of impregnated materials for extraction and separation of non-ferrous metals, *Review. Inform. TsNIIEITsM* **1980**, 3.
14. Mukhin, V. M.; Tarasov, A. V.; Klushin, V. N.; *Active coals of Russia*, Metallurgy: Moscow, 2000.
15. Myasoedova, G. V.; Nikashina, V. A.; *Russian Chemistry Journal* **2006**, 50(5), 55.
16. Palant, A. A.; Troshkina, I. D.; Chekmarev, A. M.; Kostylev, A. I.; *Rhenium technology,* Galleya-Print: Moscow, 2015.
17. Tran, H. N.; You, S.-J.; Hosseini-Bandegharaei, A.; Chao, H.-P.; *Water Research* **2017**, 120, 88.
18. Warshawsky, A.; Cortina, J. L.; *Proc. of the Intern. solvent extract. conf.: ISEC* **2002**.
19. Warshawsky, A.; *Ion Exchange and Solvent Extraction* **1981**, 8(3), 229.
20. Zagorodni, A. A.; *Ion Exchange Materials,* Elsevier: Amsterdam, London, 2007.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 1. *Rate constant values of the TAA carrier impregnation*

Pseudo-first-order model		**Pseudo-second-order model**		**Internal diffusion model**		**Elovich model**	
k_1, min^{-1}	R^2	k_2, $g \cdot mg^{-1} \cdot min^{-1}$	R^2	k_p, $mg \cdot g^{-1} \cdot min^{-0.5}$	R^2	β, $g \cdot mg^{-1}$	R^2
Trialkylamine (295K)							
0.0011	0.862	0.00025	0.994	2.79	0.829	0.085	0.967
Solution of trialkylamine in acetone (295K)							
0.0019	0.592	0.00017	0.986	2.12	0.796	0.059	0.937
Trialkylamine (323K)							
0.0037	0.573	0.00091	0.998	1.37	0.745	0.133	0.902

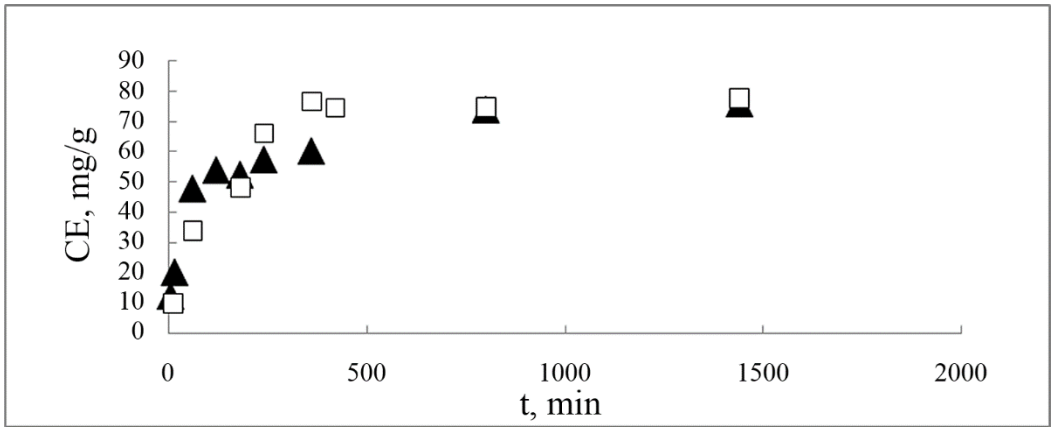


Figure 1. *Kinetic curves of the cation exchanger impregnation with the TAA solution in acetone (□) and pure TAA (▲)*

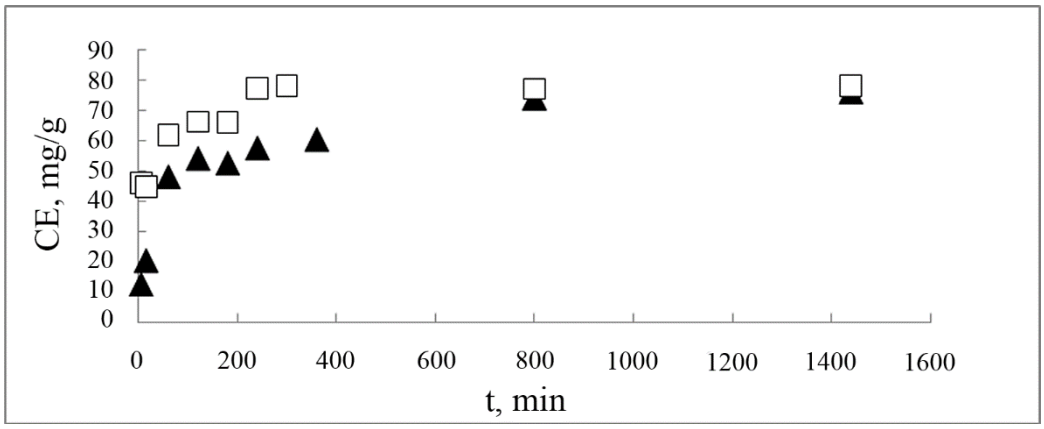


Figure 2. *Kinetics of the cation exchanger impregnation with TAA at the temperatures of 295 (▲) and 323 (□) K*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

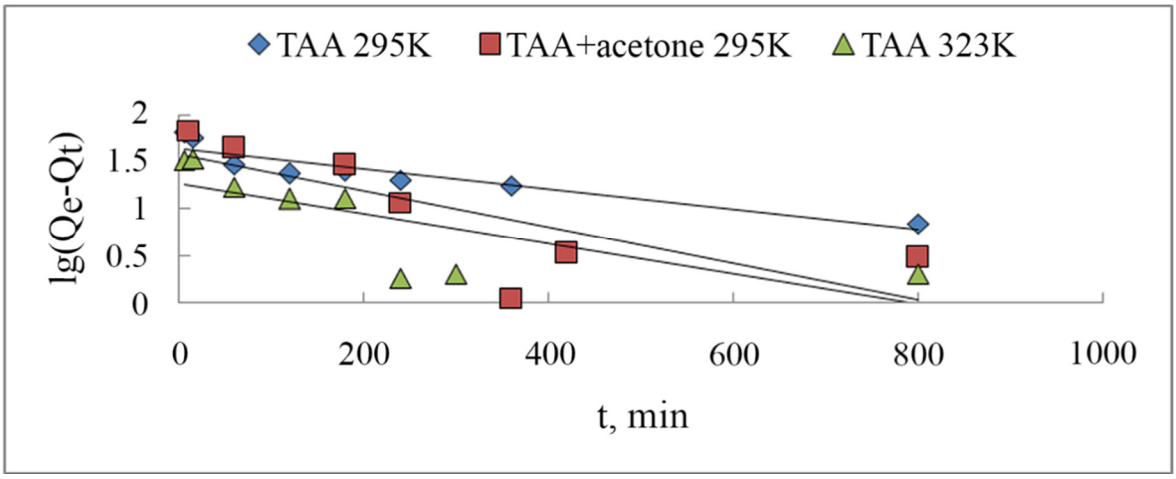


Figure 3. *Dependence of lg(Q_e-Q_t) on time t for the experimental data on TAA carrier impregnation*

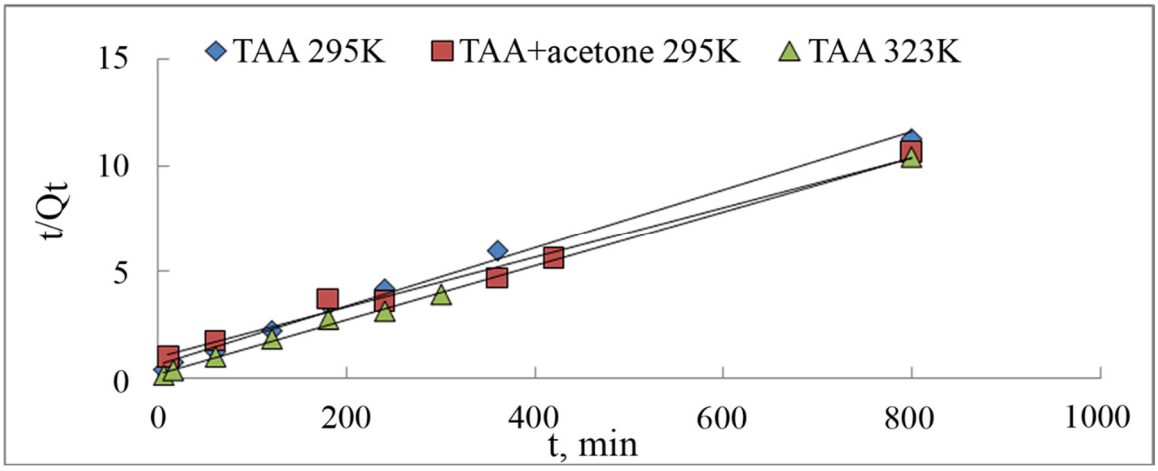


Figure 4. *Dependence of t/Qton time t for the experimental data on TAA carrier impregnation*

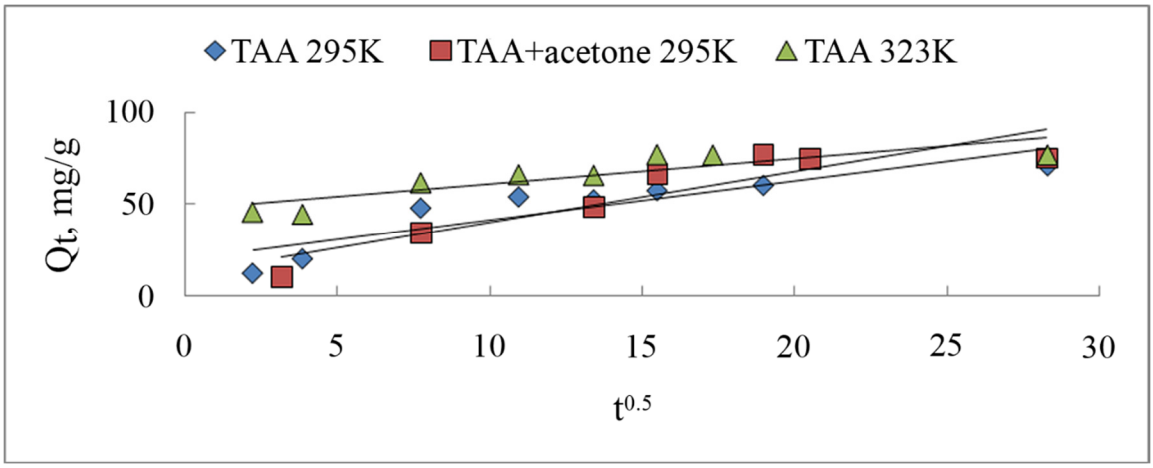


Figure 5. *Dependence of Qt on $t^{0.5}$ for the experimental data on TAA carrier impregnation*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

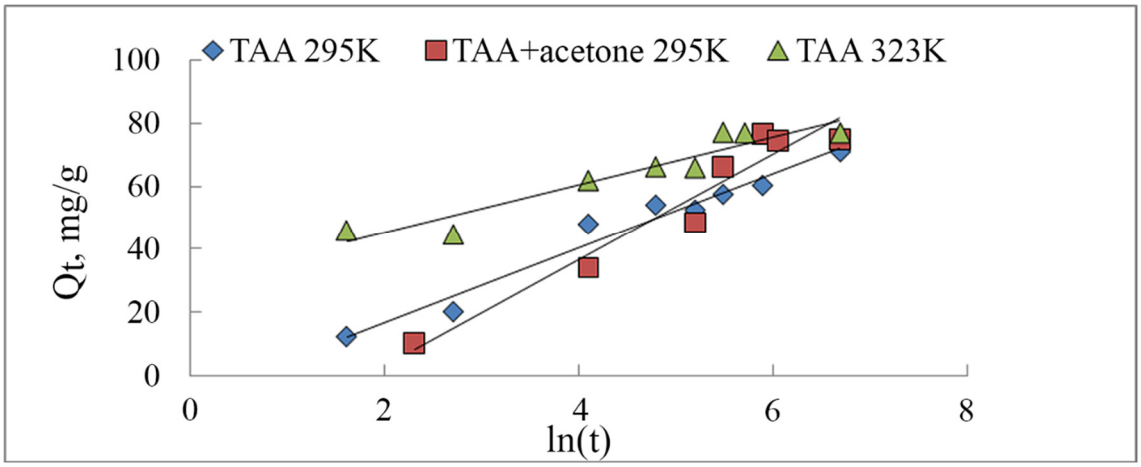


Figure 6. *Dependence of Qton ln(t) for the experimental data on TAA carrier impregnation*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

AVALIAÇÃO DA PESQUISA DAS ATIVIDADES LIGNINOLÍTICAS E CELULÓLICAS DE ESTIRPES DE FUNGOS BASÍDIOS E DESENVOLVIMENTO DE VARIEDADES COM ALTO POTENCIAL CATALISADOR PARA A FERMENTAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGRONEGÓCIOS "BIOVEL"

SCREENING ASSESSMENT OF LIGNINOLYTIC AND CELLULOLYTIC ACTIVITY OF BASIDIUM FUNGI STRAINS AND DEVELOPMENT OF STRAINS WITH HIGH POTENTIAL FOR WASTE FERMENTATION CATALYST "BIOVEL-FERMER"

СКРИНИНГОВАЯ ОЦЕНКА ЛИГНОЛИТИЧЕСКОГО И ЦЕЛЛЮЛОТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ШТАММОВ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ И СОЗДАНИЕ НА ОСНОВЕ ПОЛУЧЕННЫХ ДАННЫХ ВЫБОРКИ НАИБОЛЕЕ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ШТАММОВ ДЛЯ УСКОРИТЕЛЯ ФЕРМЕНТАЦИИ ОТХОДОВ АПК «БИОВЕЛ-ФЕРМЕР»

MASLENNIKOV, Sergey S.*[1]; SELITSKAYA, Olga V.[2]; SNEGIREV, Dmitry V.[2]

[1]Veles LLC
14/2 Boris Galushkin Str., 129301, Moscow, Russian Federation

[2]Federal State Budgeted Institution of Higher Education "Russian State Agricultural University – Moscow Agricultural Academy named after K. A. Timiryazev"
49 Timiryazev Str., 127550, Moscow, Russian Federation

** Corresponding author*
iris150055@yandex.ru

Received in 20 September 2018; received in revised form 08 November 2018; accepted 17 December 2018

RESUMO

Resíduos agrícolas de animais (*LHCSH*) causam poluição ambiental severa; é por isso que muitos países têm programas nacionais e regionais para reduzir a pressão negativa desses resíduos sobre o estado ambiental do ambiente. A tarefa real da microbiologia é a busca de métodos alternativos de disposição de resíduos, dentre os quais o mais promissor é a compostagem. Ao contrário de outras formas de utilização do LFA do SZHZH, este método permite obter valiosos biofertilizantes e solos do solo que são mais baratos que os fertilizantes tradicionais. Foi agora estabelecido que, para compostagem sob condições de produção, quando apenas um número limitado de microrganismos é possível, a conversão do substrato inicial é mais eficaz quando vários organismos heterotróficos, em particular fungos com elevado potencial celulolítico e lignolítico, são utilizados como bioativadores. Como os potenciais lignolíticos e celulósicos são as principais características dos basidiomicetos que determinam sua capacidade de biodegradação, a seleção de cepas fúngicas efetivas de "podridão branca" será realizada com base na triagem preliminar de sua atividade ligno- e celulolítica.

Palavras-chave: produto biológico, compostagem, capacidade de biodegradação.

ABSTRACT

Waste from agricultural animals (LHCSH, liquid and solid wastes from agricultural animals) causes severe environmental pollution; which is why many countries have national and regional programs to reduce the negative pressure of these wastes on the environmental state of the environment. The actual task of microbiology is the search for alternative methods of waste disposal, among which the most promising is composting. Unlike other ways of utilizing the LFA (liquid and solid wastes) of the SZHZH (agricultural animals) this method allows obtaining valuable biofertilizers and soil soils that are cheaper than traditional fertilizers. It has now been established that, for composting under production conditions, when only a limited number of

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

microorganisms are possible, the conversion of the initial substrate is most effective when various heterotrophic organisms, in particular fungi with high cellulolytic and lignolytic potential, are used as bioactivators. Since the lignolytic and cellulose potentials are the main characteristics of basidiomycetes determining their biodegradation ability, the selection of effective "white rot" fungus strains will be carried out based on preliminary screening of their ligno- and cellulolytic activity.

Keywords: biological product, composting, biodegradation capacity.

АННОТАЦИЯ

Отходы сельскохозяйственных животных (ЖТО СХЖ) являются причиной сильного загрязнения окружающей среды; именно поэтому во многих странах действуют общегосударственные и региональные программы по уменьшению отрицательного давления этих отходов на экологическое состояние окружающей среды. Актуальной задачей микробиологии является поиск альтернативных методов утилизации отходов, среди которых наиболее перспективным является компостирование. В отличие от других способов утилизации ЖТО СХЖ этот метод позволяет получать ценные биоудобрения и почвенные грунты, являющиеся более дешевыми, чем традиционные удобрения. В настоящее время установлено, что для компостирования в производственных условиях, когда возможно использование только ограниченного количества микроорганизмов, наиболее эффективно конверсия исходного субстрата протекает при использовании в качестве биоактиваторов различных гетеротрофных организмов, в частности, грибов, обладающих высоким целлюлолитическим и лигнолитическим потенциалом. Так как лигнолитический и целлюлотический потенциал – основные характеристики базидиальных грибов, определяющие их биодеградационную способность, при реализации предлагаемой работы выбор эффективных штаммов грибов «белой гнили» будет осуществлен на основании предварительного скрининга их лигно- и целлюлолитической активности.

Ключевые слова: биопрепарат, компостирование, биодеградационная способность.

INTRODUCTION

Liquid and solid agricultural wastes, including manure, consist of animal excrements and bedding. Bedding is usually made of straw and wood shavings. Both materials are lignocellulose substrates. Biological strains and bacteria consortium (in particular, *B. subtilis*) activate hydrolysis of the wastes proteins and fermentation of sugars, but lignin, the most difficult polymer to degrade, remains untouched. It is known that lignocellulolytic enzyme producing fungi are quite widespread and belong to ascomycetes and basidiomycetes species. Basidiomycete-induced lignocellulose processes include the activity of the complicated multienzyme complex of cellulases, hemicellulases,and ligninases, which reflects the complexity and integrity of the material degraded. The review of the present data shows that the following mold fungi are used as composting activators: *Syncephalasrum recemosum gen. Penicillium*, consortium that contains fungi strains *Trichoderma, Ergillus, Penicillium and Trametes,* etc. Thus, the main biological components of bioproducts, that completely and effectively process lignocellulose wastes, are basidiomycetes.

Basidiomycetes play a leading role in forest ecosystems, although most basidium macromycetesalso grow in other habitats (meadows, plains, and even deserts). Morphological diversity of basidiomes allows them to be present in all eco-habitats and take part in all stages of organic degradation in forest cenosis. Thus, the main function of basidiomycetes in ecosystems is organic decay at all the stages of its degradation. This capacity allows basidiomycetes to degrade wood substrate, in particular, lignin, which attracts researchers' interest not only in the study of this fundamental process but also in the further development of wood and plant waste processing biotechnologies (Bondartseva, 2008).

White-rot fungi can synthesize a number of extracellular enzymes that take part in modification and degradation of lignin. The most important of them are two heme-containing peroxidases: ligninase (diarylpropaneoxygenase, H_2O_2-dependent oxygenase, lignin peroxidase) and manganese peroxidase, which catalase one-

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

electron oxidation of aromatic substrates, and one “blue” copper-bearing oxidase - laccase (n-diphenol: oxygen-oxidoreductase) (Golovleva and Leontievskiy, 1990).

White-rot fungi contain different combinations of main enzymes in their ligninolytic complex. By this feature, they are divided into four groups (although this division is quite conventional and may have exceptions):

- Fungi, synthesizing lignin peroxidase (LP), manganese peroxidase (MnP) and laccase.
- Fungi, synthesizing MnP and laccase.
- Fungi, synthesizing LP and laccase.
- Fungi, synthesizing only LP.

The 1st group includes *Phanerochaete* chrysosporium (the mostly studied white-rot fungus), *Phlebia radiata, Trametes (Coriolus*) *versicolor*.

Mn-peroxidase/laccase group includes *Panus tigrinus, Dichomitus squalenes, Rigidoporus lignosus*.

Fungi, that synthesize primarily laccase and LP, are *Phlebia ochraceofulva*, *Polyporus pinsitus, Pleurotus florida.*

The 4th group includes the most studied fungus – *Bjerkandera adusta*.

It should be mentioned that there is a special group of white-rot fungi that does not show oxidase activity. Physiology of these fungi is not studied yet. Among them, there are such delignificators as *Fomes lignosus* and *Trametes cingulata* (Tuor *et al.*, 1995). Maximal activity levels of the studied strains are presented in Table 1. The obtained data shows that the studied basidiomycetes can be divided into 3 groups. The 1st group contains fungi that show primarily laccase activity of the enzymes of ligninolytic action: *Coriolopsis caperata*, *Pleurotus pulmonarius* (Clitopilus prunulus), *Steccherinum murashkinskyi*, *Xerula radicata*, Trametes hirsuta. The 2nd group includes such strains as *Byssomerulius avellaneus*, Trametes versicolor 1666 (given from the collection as Flammulaster limulatoides), *Irpicodon pendulus* that primarily produces peroxidase). The obtained data agrees with scientific literature data on uneven ligninolytic enzyme production by different basidium fungi genus. It should be noted that ligninolytic enzymes production profiles of the strains *Steccherinum murashkinskyi*, *Xerula radicata,* and *Irpicodon pendulus* were studied for the first time, which complicates their comparison of the mechanism of ligninolysis.

The purpose of the work is to perform screening assessment of the ligninolytic and cellulolytic potential of basidium fungi strains for application in biological products development for processing of liquid and solid agricultural animal wastes into biofertilizers and soil compounds, based on enzyme activator “Biovel-Fermer”.

MATERIALS AND METHODS

Objects of the study were white-rot fungi that perform primary degradation of wood, in particular, *Coriolopsis caperata*, *Pleurotus pulmonarius*, *Steccherinum murashkinskyi*, *Trametes hirsuta*, *Byssomerulius avellaneus*, *Trametes versicolor*, *Irpicodon pendulus,* and *Xerula radicata*. All cultures are stored in test tubes in full yeast medium at 4 °C at the Department of Microbiology and Immunology at RSAU-MAA named after K. A. Timiryazev.

Fungi culture cultivation was performed on agar by the method of static liquid-phase cultivation (by superficial method) with further passage on submerged cultivation.

Superficial cultivation of seed material was done on nutrient medium with initial pH 6.0 of the following composition: (g/L): glucose 10.0; peptone 3.0; KH_2PO_4 0.6; $ZnSO_4 \times 7H_2O$ 0.001; $K_2HPO_4 \times 3H_2O$ 0.4; $FeSO_4 \times 7H_2O$ 0.0005; $MnSO_4 \times 5H_2O$ 0.05; $MgSO_4 \times 7H_2O$ 0.5. 0.5. Cultivation of fungi seed material by superficial method was done in 750 ml test tubes containing ceramic beads and 150 ml of nutrient medium. Bits of epithelium were taken from agar and incubated at 26-28 °C for 6-8 days. The test tubes with superficial mycelial film can be stored for 6-8 days at +4 °C.

Further white-rot fungi growth was performed by submerged cultivation in cone flasks.

Qualitative evaluation of ligninolytic and laccase activity was performed by the express method (Marr, 1979). The strains were cultivated in darkness at 25 °C in Petri dishes (90 mm) with the following medium: glucose 10.0; peptone 3.0; KH_2PO_4 0.6; $ZnSO_4 \times 7H_2O$ 0.001; $K_2HPO_4 \times 3H_2O$ 0.4; $FeSO_4 \times 7H_2O$ 0.0005; $MnSO_4 \times 5H_2O$ 0.05; $MgSO_4 \times 7H_2O$0.5. Ligninolytic enzymes activity was assessed in 1 and 2 weeks of cultivation.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Near the edge of fungus growing, 5 mm blocks of mycelium were taken and transferred into the wells of microbiologic plates. After that, solutions of guaiacol 2 ml/100 ml H_2O and 1.0% syringaldazine in C_2H_5OH were dropped into the wells. The activity was assessed visually by the intensity of chromatic reactions from "–" – no activity to "+++".

Laccase activity was registered by spectrophotometry by the increase of optical density after adding 0.1 ml of 0.018% alcohol solution of syringaldazine into reaction mixture (1.7 ml of phosphate-citrate, pH 5.0 and 0.2 ml of cultural filtrate at the wavelength λ = 525 nm (Leonowicz and Grzywnowicz, 1981). Conventional unit of enzyme activity was taken an increase of optical density in 1 ml of reaction medium per 1 minute.

RESULTS

The maximal activity level of the studied strains in different media is presented in Table 1. The obtained data shows that the studied basidiomycetes can be divided into 3 groups. The 1st group includes, primarily, fungi that show laccase activity of ligninolytic action: *Coriolopsis caperata*, *Pleurotus pulmonarius* (Clitopilus prunulus), *Steccherinum murashkinskyi*, *Xerula radicata,* and *Trametes hirsuta*. The 2nd group includes such strains as *Byssomerulius avellaneus*, *Trametes versicolor 1666* (given from the collection as *Flammulaster limulatoides*), *Irpicodon pendulus* with primary production of peroxidase. The obtained data agrees with other scientific data on the uneven distribution of ligninolytic enzymes production by different species of basidium fungi. It should be noted that ligninolytic enzymes production profiles of the strains *Steccherinum murashkinskyi*, *Xerula radicata,* and *Irpicodon pendulus* were studied for the first time, which complicated their comparison of the mechanism of ligninolysis.

The data on levels of enzyme activities, obtained during the studied strains cultivation, in the medium that did not contain straw, were taken as the control. Strains cultivation, performed on straw containing a medium, was defined as the test. The study of laccase dynamics was done by spectrophotometry, using syringaldazine as a substrate.

Before, it was shown that during submerged cultivation of *Pleurotus pulmonarius*, *Steccherinum murashkinskyi* and *Coriolopsis caperata* on optimized by multifactor test method medium, the levels of laccase activity in culture fluid of *Coriolopsis caperata* and *Steccherinum murashkinskyi* were significantly higher than the levels in *Pleurotus pulmonarius*during all the period of cultivation. Activity profiles of these fungi were similar, and the maximal level of enzyme activity was observed on the 36th day of cultivation. Still, the level of activity in *Coriolopsis caperata* was 11 times higher, and in *Steccherinum murashkinskyi* – 9 times higher than in *Pleurotus pulmonarius*. Similar dynamics of peroxidase activity was observed in culture fluid of *Coriolopsis caperata*, it was 10 times higher, and *Steccherinum murashkinskyi* was 12 times higher than *Pleurotus pulmonarius*, which shows the nearly similar difference in absolute values of ligninolytic enzyme complex production by these strains.

The dynamics of laccase activity during cultivation of *Pleurotus pulmonarius*is presented in Figure 1. The analysis of the obtained data allowed the authors to conclude that enzymatic activity profiles in test and control samples were similar and the main difference was in the level of enzyme production. Within 24 days of cultivation, enzyme activity in control and test samples was similar, because there were enough nutrients in the medium. On the 37th day, the maximal activity was observed in both test and control samples, while in test samples the enzyme activity was 3.5 times higher. Probably, it is associated with the fact that within 24 first days the fungi utilized easy sources of carbon and nitrogen (enriched medium) and only after that the process of straw degradation got intensified. During straw degradation in test samples,water-soluble compounds were synthesized, which were used as a source of carbon and nitrogen. Possibly, this is accompanied by the synthesis of straw degradation products, which induce enzyme biosynthesis by the strain.

Dynamics of laccase activity during cultivation of *Coriolopsis caperata*, *Steccherinum murashkinskyi,* and *Trametes hirsuta* is presented in Figures 2-4. The presented data shows inhibition of straw degradation by straw components or products of its degradation approximately by 18, 2 and 13 times for *Coriolopsis caperata*, *Steccherinum murashkinskyi* and *Trametes hirsuta* strains, respectively, during the cultivation.

The most interesting data were obtained

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

during cultivation of *Xerula radicata*. Under both options of cultivation, laccase activity did not differ significantly. Absolute values of laccase activity did not differ either, which allowed the authors to suggest that peroxidases play the main role in the process of delignification.

Based on the obtained data, it was concluded that activity profiles are similar and differ by the level of enzymatic activity. It should be noted that in this case the opposite tendency is observed, enzymatic activity in the control samples was higher by 2–18 times than in the test samples. This can be associated with the compounds that are synthesized during the process of straw destruction. They inhibit the production of laccase enzyme by *Coriolopsis caperata*, *Steccherinum murashkinskyi,* and *Trametes hirsuta*.

The data of significant interest was obtained by the comparison of laccase dynamics activity in the test samples of *Coriolopsis caperata* and *Pleurotus pulmonarius*. Laccase inhibition in *Coriolopsis caperata* by the compounds, that were synthesized during straw biotransformation, was observed. The rate of inhibition was 4 times higher. The opposite was seen at the cultivation of *Pleurotus pulmonarius*– laccase activity is induced by the products of straw biotransformation. Thus, at the moment of maximal enzymatic activity, shown by *Pleurotus pulmonarius* and *Coriolopsis caperata*, the levels of activity differ by 7.5 times. Still, the profiles of activity of both fungi species are similar.

Cultivation of *Byssomerulius avellaneus*, *Trametes versicolor* 1666 (*Flammulaster limulatoides*) and *Irpicodon pendulus*, which were included into the 2nd group with lower enzymatic activity during surface cultivation, showed that straw containing medium significantly increased laccase activity.

The obtained data showed that during the cultivation of *Byssomerulius avellaneus* in straw containing a medium, laccase biosynthezis induction was observed, its activity increased by 195 times. A similar tendency was seen during basidiomycete *Irpicodon pendulus* cultivation, and its activity increased by 27.5 times. The biggest difference in enzymatic activity during cultivation in the enreached nutrient medium was observed in *Trametes versicolor*, which was 233 times higher.

Thus, the activity of fungi from the 1st group, which had a high level of enzyme production during submerged cultivation and high level of laccase production during surface cultivation, was inhibited by the products of straw degradation or by straw components, which appeared during sterilization of the substrate in an aqueous medium. However, basiomycetes with a low level of laccase biosynthesis from this group at submerged cultivation and with high level at submerged cultivation in straw containing medium (*Pleurotus pulmonarius*) were similar to the fungi from the 2nd group, where the enzyme activity increased in the presence of straw.

Apart from laccase, ligninolytic basidiomycete enzymatic complex contains peroxidase that plays an important role in complex biopolymer transformation. The scientific literature review showed that the genes, encoding peroxidases, were present in all the genomes of the studied basidiomycetes. It is known that basidiomycetes synthesize a wide range of peroxidases, like ligninperoxidase, Mn-peroxidase, versatile peroxidase, etc. Peroxidase activity was identified by two methods: classic test by 2,2'-azino-di-[3-ethylbenzothiazoline sulphonate] (ABTS) as a substrate in the presence of peroxide and modified test for polyfunctional peroxidases by ABTS substrate in the presence of peroxide and Mn^{2+}.

General dynamics of peroxidase activity during cultivation of the studied strains were similar to the observed laccase activity.

Peroxidase activity profiles during cultivation of *Pleurotus pulmonarius*in the enriched nutrient medium in the presence of straw and in the absence of straw were similar. During the first 16 days, peroxidase activity in control and test samples was similar, and then significantly increased in the test samples. The maximal activity was registered on the 36th day of the cultivation, and the activity was 9 times higher in the test samples than in the control ones.

When the fungi were cultivated in a poor nutrient medium, significant differences in activity levels were observed starting from the 14th day. Maximal difference in activity levels between the control and the test samples was registered on the 39th day when the activity in test samples was maximal and exceeded the activity in control samples by 29 times. It should be noted that during surface cultivation in a poor nutrient medium, a sharp increase of peroxidase activity was registered on the 16th day, and it remained high during all the period of cultivation.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

During the first 14 days of cultivation in an enriched nutrient medium, the activity in control and test samples were similar, and then a quick increase of activity was registered in the control samples, reaching the maximal values on the 45th day (in the control sample the activity was 18 times higher).

Absolute values of peroxidase activity during cultivation of *St. murashkinskyi* were significantly higher (by 4 and 200 times) than in *Coriolopsis caperata* and *Pleurotus pulmonarius*, which allowed the authors to consider peroxidases as dominant enzymes in lignocellulotic material degradation by this strain, although degradation products exerted a significant inhibitory effect.

Comparison of peroxidase activity dynamics of the studied fungi showed that absolute values of enzymatic activity in *Pleurotus pulmonarius*were 22.5 times higher than in *Coriolopsis caperata* during cultivation in the enriched nutrient medium.

Unlike the dynamics during cultivation of the previous strains, where there were no differences during the first 15-20 days of cultivation between the dynamics of activity in the presence and absence of straw, in *Trametes hirsuta* fungi significant change was observed between the test and control samples during the first 15 days and on the 10th day, when maximal activity was 2.4 higher than in the control samples. Absolute values of peroxidase activity during cultivation of *Trametes hirsuta* was close to the values in St. *murashkinskyi* strain. Further cultivation of peroxidase activity was high in both cases during all the period of cultivation. The obtained data indicated on high potential of *Trametes hirsuta* for development of biological products for processing of hard degrading fraction of manure.

The study of activity dynamics in basidiomycete *Xerula radicata* showed inhibiting the action of straw and its components on the peroxidase production. Enzymatic activity during cultivation in straw containing medium decreased by 2 times.

The obtained data showed that both laccase and peroxidase biosynthesis activation was observed during cultivation of *Pleurotus pulmonarius*in straw containing medium. Cultivation of *Coriolopsis caperata*, *St. Murashkinskyi*, *Trametes hirsuta,* and *Xerula radicata* strains showed laccase and peroxidase inhibition in the straw-containing medium.

Fungi from the 2nd group had the highest peroxidase activity in comparison with laccase activity level. Thus, *Byssomerulius avellaneus* did not show peroxidase activity in the control samples, but during cultivation in straw containing medium the activity was 114 units by the 45th day and by the 70th day the activity increased by 1.5 times more. *Trametes versicolor* and *Irpicodon pendulus* increased by 266 and 68 times, respectively.

The study of versatile peroxidase dynamics was performed using ABTS and Mn^{2+} as substrates in the presence of hydrogen peroxide. Similar to peroxidase and laccase activity, the inhibition of versatile peroxidase activity during cultivation of *Coriolopsis caperata*, *Trametes hirsuta,* and *Steccherinum murashkinskyi* was observed. The increase of versatile peroxidase activity (VP) was observed during cultivation of *Pleurotus pulmonarius*in straw containing medium. The increase of VP activity in *Pleurotus pulmonarius*was by 1.8 times. In *Coriolopsis caperata*, *Trametes hirsuta* and the *Steccherinum murashkinskyi* samples enzyme production decrease were by 37.8, 1.5, and 1.8 times, respectively.

The lowest sensitivity of PA in *Trametes hirsuta* to inhibiting the action of straw indicated on the high potential of this basidiomycete for development of biological products for processing of hard degrading fraction of agricultural wastes.

In *Xerula radicata* the activity of VP was lower during cultivation in straw containing medium than in the control samples during cultivation for 35 days. However, during further cultivation enzymatic biosynthesis activation was observed.

In the 2nd group of strains, the tendency towards enzyme production increase in straw containing medium remained. The most significant change was observed in the activity of *Trametes versicolor* fungi, it was higher by 1090 times. The increase of VP activity during cultivation of basidiomycetes *Byssomerulius avellaneus* and *Irpicodon pendulus* in the poor nutrient medium was by 401 and 17 times and in enriched nutrient was by 542 and 6 times, respectively.

It is known that ligninolytic complex includes not only enzymes that transform lignin, but also concomitant enzymes that maintain ligninolytic enzymes functioning. One of the

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

enzymes that catalyze hydrogen peroxide synthesis is aryl-alcohol oxidase that maintains the reactions catalyzed by peroxidases.

Comparison of aryl-alcohol oxidase activity dynamics during cultivation of *Pleurotus pulmonarius*, *Coriolopsis caperata,* and *Trametes hirsuta* showed that in both cases during cultivation the activity was higher in the test samples than in the control samples, which indicated on the increased need in hydrogen peroxide during fungi growth in straw containing a medium. This can be associated with both increase of enzymatic biosynthesis, that utilize hydrogen peroxide as a substrate, and intensification of non-enzymatic processes of lignocellulotic substrate biotransformation. Comparison of peroxidase and aryl-alcohol oxidase activity dynamics showed that the peak of peroxidase activity was preceded by the peak of aryl-alcohol oxidase activity, which indicated on the close association between not only catalytic enzyme cycles, but also their biosynthesis.

There were 2 peaks of activity on the activity profiles of both strains during cultivation in different media. The 1st peak was observed on the 8-15th days,and the 2nd peak was registered at the end of cultivation. The maximal difference in activity levels in the control and test samples in *Pleurotus pulmonarius*was higher by 18 times, for *Coriolopsis caperata* – by 11 times on the 14th day, and for *Trametes hirsuta* – by 13 times on the 8th day.

Since the levels of aryl-alcohol oxidase in both fungi were similar, it can be suggested that the fungi produced the nearly equal amount of peroxide enzymes. However, as it can be seen by the data from previous studies, the level of peroxidase activity in *Coriolopsis caperata* is lower than in *Pleurotus pulmonarius*, which is, probably, associated with sorption of these enzymes by straw, and, consequently, with the underestimated activity level of this enzyme in *Coriolopsis caperata*. It can also be suggested that there are differences in mechanisms of biotransformation of lignocellulose materials, in particular, in the presence of non-enzymatic stage within this process.

During the cultivation of the studied strains, the level of enzyme production was higher in the test samples than in the control ones during all the period. This indicated on the presence of ligninolytic activity inducers in the straw containing a medium that acted as substrates for ligninperoxidases. It should be noted that induction of enzyme production for different strains differed by 8–425 times and did not depend on the group, where they belonged. The highest activity increase was observed in *Steccherinum murashkinskyi* in comparison with the control samples, and the lowest activity was observed in *Pleurotus pulmonarius*.

Straw biotransformation monitoring was performed on the 29th and 47th day of cultivation. The controlled parameters of straw biotransformation process included lignin, cellulose and hemicellulose content, ash content and mycelium mass. Identification of water-soluble compounds in the samples of biotransformed straw was not reasonable because the majority of its mass contained in the cultural fluid.

The obtained data showed that the straw mass reduction during biotransformation by the studied basidiomycetes was on average 20%, despite the significant difference in the levels of enzymatic activity of ligninolytic complex enzymes.

The data presented in Table 2 shows that on the 47th day lignin reduction did not increase significantly in comparison with the 29th day. The highest lignin reduction was observed in *Pleurotus pulmonarius* samples, where the reduction increased by 1.39 times. The reduction of straw in all the fungi samples on the 29th day in comparison with the 47th day did not change significantly, except in *Trametes versicolor* and *Cerrena maxima* strain samples, where the reduction level was 2.2 and 1.3 higher, respectively.

Significant reduction of hemicellulose by *Pleurotus pulmonarius, Coriolopsis caperata* and *Trametes maxima* strains was observed on the 29th day. However, further hemicellulose degradation was more intensive, and by the 47th day, its level became similar to other fungi. The strains *Trametes versicolor*, *Byssomerulius avellaneus,*and*Irpicodon pendulus* degrade straw hemicellulose well. However, they consume cellulose less intensively. It is evident that the effectiveness of this process depends on the range of enzymes synthesized by the studied basidiomycetes.

Xylolysis index is the key parameter in the process of lignocellulotic materials degradation that shows the ratio of the utilized cellulose to the summary cellulose and lignin degradation by

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

fungi. This coefficient allows the researchers to estimate what consumption is bigger: cellulose or lignin. The obtained results analysis showed that the studied fungi belonged to the species of white-rot that equally well degrades lignin and cellulose, causing significant mineralization of plant material.

The obtained data, presented in Table 2, showed that during surface cultivation more cellulose was utilized than lignin since xylolysis index was >0.5. During cultivation, the xylolysis index reduced with time, but still remained >0.5. This indicated on the fact that fungi first consumed nitrogen and carbon from the medium, and when their content was reduced, they started degrading a more complicated source of carbon – straw cellulose. Only after that, at the stage of secondary metabolism, these strains began to utilize lignin more intensively by an enzymatic method, i.e., producing ligninolytic enzymes.

The dynamics of enzymatic activity for all the studied cultures had two peaks. The peak of second order activity for all the strains was observed on the 29-30th day of the cultivation, which indicated on the activation of secondary metabolism, accompanied by the cells autolysis, intracellular phenoloxidases release and activation of other enzymatic systems (for example, intracellular tyrosinase) that can oxidize phenolic compounds, including pyrocatechin, which is a standard substrate for laccase activity identification.

Based on the obtained data on the lignin content reduction and laccase activity dynamics, it can be suggested that there is no direct correlation between these parameters. However, the high level of this enzyme activity indicates its importance in the processes of delignification. The results of the present study confirm other research data on the key role of laccase in the process of lignin-carbohydrate complex degradation by the fungi (Babitskaya, 1991; Ernakova, 1972). Lignin molecule residues exert high reactive capacity due to their propylphenolic radical groups and can be very dangerous for any biological system, in particular, for microorganisms' cells. It can be suggested that laccase with its capacity to polymerize low molecular aromatic compounds induces oxidative condensation of lignin molecules residues. It leads to the synthesis of high molecular complexes with the inclusion of protein nitrogen by nucleophilic mechanism (Orlov *et al.*, 1969; Paszczynski *et al.*, 1988).

Monitoring of straw biodegradation process was performed in the same way as during surface cultivation on the 29th and 47th day, but additionally, water-soluble compounds of cellulose were identified during solid-phase cultivation. It was done because water-soluble compounds were contained in the concentration higher than in cultural liquid, where it was less than 3%. During solid-phase cultivation it is impossible to separate fungi mycelium from straw, for this reason, the whole lab tube content was dried and fined for further identification of substances content (Figure 5).

The data obtained during straw biotransformation monitoring at the solid-phase cultivation of the studied basidiomycetes were summarized in Table 3. The results showed that on average the fungi from the 1st group utilized up to 50% of the straw mass, which confirmed their high delignification potential, and fungi from the 2nd group and *Xerula radicata* only up to 10-25%.

During the cultivation, basidiomycete strains degraded the plant substrate in similar grade. After 47 days maximal substrate reduction was 31.8% in *T. hirsuta*, 32.7% in *T. maxima*, 32.2% in *Coriolopsis caperata* and 31.6% in *Pleurotus pulmonarius*samples. Hence, among the studied strains, *T. hirsuta* had the highest potential in the development of biological products for degradation of hard degrading components of agricultural wastes. The efficiency of other strains was lower. Minimal values of straw mass reduction were observed in *Trametes versicolor* samples, and it was equal to 8.3%.

The high potential of *T. hirsuta* in development of biological products was confirmed by the data on lignin reduction in straw during the studied period. This strain showed the highest lignin reduction level equal to 38.9%. The rest strains showed a lower reduction level: 35.4% in *T. maxima* and 35.9% in *Pleurotus pulmonarius* samples. The lowest reduction level of lignin was observed in *Trametes versicolor* and *Xerula radicata* samples, it was 8.7 and 11.5%, respectively. However, in these basidium fungi samples, the reduction of water-soluble celluloses was more than 60%. In *Trametes versicolor* strain sample they were completely utilized. Hemicellulose reduction level was higher than cellulose reduction level in *Xerula radicata* and *Trametes versicolor* samples by 5–6 times, which indicated on the high cellulolytic activity of these strains.

The obtained data showed the high

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

degrading activity of the studied strains towards lignocellulotic materials and highly selective action on lignin. The comparison can be made with other research data on white-rot fungi. For example, *Pl. eryngii, Ph. radiata* and *Ceriporiopsis subvermispora* reduced wheat straw mass by 20 - 30% on the 60th day of solid-phase fermentation. *Ph. chrysosporium* degraded up to 45% of the substrate in the same period (Galliano *et al*., 1991). The same fungus mineralized the majority of lignin content (up to 12%) by the end of cultivation. Thus, it can be concluded that ligninolytic activity of nearly all the studied strains, except for *Trametes versicolor* and *Xerula radicata*, was high. Whilst, *T. hirsuta* has the highest potential in the development of the biological product for processing of agricultural wastes. This strain showed the highest results by a number of parameters, including lignin and cellulose content reduction during solid-phase cultivation.

The analysis of the data on the content of main straw components (cellulose and lignin) before and after solid-phase fermentation of basidiomycetes on this substrate and on the straw mass reduction during the fermentation (Table 3) allowed the authors to estimate cellulose and lignin mass reduction and calculate the Ic index. The Ic index is an important characteristic of wood-degrading fungi, which reflects the selective capacity of the studied microorganism to degrade either lignin or cellulose (Soloviev *et al*., 1986). The data presented in Table 3 showed that during cultivation on a solid substrate, the majority of fungi consumed lignin and cellulose in equal amounts, because the index of xylolysis was around 0.5, regardless of the medium and time of cultivation. In other words, the summarized activities of ligninolytic and cellulolytic enzymes in the studied strains were similar or included non-enzymatic stages that contributed to the fermentation processes, providing high ligninolytic and cellulolytic potential of basidiomycetes. *T. hirsuta* strain sample was characterized by the lowest Ic (0.42), i.e., this fungi exerted the highest selectivity to lignin.

The analysis of laccase activity and plant substrate lignin mineralization rate indicates the absence of a direct correlation between the studied parameters. It can be explained by the significant increase of laccase synthesis during the first 18 days of cultivation due to copper ions presence that induces enzymatic biosynthesis (Xu, 1999). The amount of the synthesized laccase could significantly exceed the amount required for lignin-carbohydrate complex degradation. However, the high level of enzymatic activity during further fermentation, when the active inducer runs out, confirms the importance of laccase in delignification processes.

CONCLUSIONS:

The obtained data analysis allowed the authors to conclude that during solid-phase cultivation on plant substrate, the key ligninolytic enzyme in *T.maxima* and *T.hirsuta* fungi was laccase. The research data showed that the studied strains of basidium fungi had the highest plant substrate delignification activity and utilized lignin and cellulose equally well (Table 3). The obtained results agree with other research data on the role of *Pycnoporus cinnabarinus* basidiomycete laccase in lignin degradation (Eggert *et al*., 1997).

Comparison of the data presented in Table 4 showed that during solid-phase cultivation lignin was degraded by the fungi more intensively than during surface liquid-phase cultivation. This was associated with direct contact of fungi hypha with straw, which added the mechanical stage of biotransformation and straw processing by low molecular compounds in radical form, which were known to “process” solid substrate. Besides, direct contact of fungi with straw surface contributed to the more efficient interaction between the synthesized ligninolytic enzymes and lignocellulotic material.

Hence, the obtained data confirmed that there were different mechanisms of lignocellulose material biotransformation during different methods of cultivation. Ligninolytic enzymatic complex biosynthesis was more effective during the cultivation of basidiomycetes on a solid substrate, i.e., in the conditions that modeled their natural life circle. It was concluded that there was no correlation between the level of production and activity of basidiomycetes ligninolytic enzymes, produced in artificial medium and during liquid-phase cultivation, and the degradation efficiency of lignocellulose substrate in natural conditions (during solid-phase cultivation). Taking into account all the above-mentioned data, *T. Hirsuta* strain was selected by the authors for the development of a

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

biological product that accelerates biodegradation of hard degrading components of agricultural wastes. This strained expressed high degrading activity in processing both lignin and cellulose.

REFERENCES:

1. Babitskaya, V. G.; *Fungi producers of physiologically active substances on lignocellulose: biology and cultivation, PhD thesis*, Institute of Microiology AN BSSR: Minsk, 1991.
2. Bondartseva, M. A.; Modern fungi ecomorphology, *Mycology in Russia. Second conference thesis reports of Russian mycologists* **2008,** 2, 220.
3. Cariello, M. E.; Castaneda, L.; Riobo, I., Gonzalez, J. R. C.; Endogenous microorganisms inoculant to speed up the composting process of urban swage sludge, *Suelo Nutr. Veg*. **2007,** 7(3), 26.
4. Chichkin, A.; Apart from milk and meat. Processing of animal production wastes cuts the costs in agricultural business, *Rossiiskaya Bizness-gazeta*, 18 August 2009, 715(31).
5. *Compost maturity index,* California Compost Quality Council, 19375 Lake City Road, Nevada City, CA 95959, June 2001. Available at: www.ccqc.org. Accessed on 25/12/2018.
6. Eggert, C.; Temp, U.; Eriksson, K.-E. L.; Laccase is essential for lignin degradation by white-rot fungus Pycnoporus cinnabarinus, *FEBS Letters* **1997,** 407, 89.
7. Ernakova, A. I.; *Plants research methods*, Kolos: Leningrad, 1972.
8. Ernst, L.; Zlochevskiy, F.; Erastov, G.; *Processing of animal and poultry production wastes,* Available at: http://www.webpticeprom.ru/ru/articles-processing waste.html?pageID=1177395301 – 2010. Accessed on 25/12/2018.
9. Fang, M.; Wong, M. H.; Wong, J. W. C.; Digestion activity of thermophilic bacteria isolated from ash-amended sewage sludge compost, *Water Air Soil Pollut*. **2001,** 126, 1.
10. Galliano, H.; Gas, G.; Seris, J. L.; Boudet, A. M.; Lignin degradation by Rigidoporus lignosus involves synergistic action of two oxidizing enzymes: Mn peroxidase and laccase, *Enzyme Microbiol. Technol*. **1991,** 13, 478.
11. Golovleva, L. A.; Leontievskiy, A. A.; Lignin biodegradation, *Microbiology achievements* **1990**, 24, 128.
12. Guoxue, Li; Zhang, F.; Sun, Y.; Wong, J. W. C.; Fang, M.; Chemical evaluation of sewage composting as mature indicator for composting process, *Water Air Soil Sludge Pollut*. **2001,** 132, 333.
13. Kulikova, N. A.; Kholodov, V. A.; Lebedeva, G. F.; Perminova, I. V.; Bioassay with humics: a statistical approach to data collection; Frimmel, F. H.; Abbt-Braun, G., eds., *Humic substances - linking structure to functions, Proceedings of the 13th Meeting of the International Humic Substances Society,* July 30 to August 4 2006*,* 441.
14. Leonowicz, A.; Grzywnowicz, K.; *Enzyme Microbial Technol.* **1981**, 3, 55.
15. Marr, C. D.; *Mycotaxon*. **1979**, 9, 244.
16. Menotta, M.; Gioacchini, A. M.; Amicucci, A.; Buffalini, M.; Sisti, D.; Stocchi, V.; Headspace solid-phase microextraction with gas chromatography and mass spectrometry in the investigation of volatile organic compounds in an ectomycorrhizae synthesis system, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2004,** 18, 206.
17. Morisaki, N.; Phae, C. G.; Nakasaki, K.; Shoda, M.; Kubota, H.; Nitrogen transformation during thermophilic composting, *J. Ferment. Bioeng*. **1989,** 67, 57.
18. Orlov, D. S.; Grishina, L. A.; Eroshicheva, N. L.; *Practical tasks for humus Biochemistry,* MSU: Moscow, 1969.
19. Paszczynski, A.; Crawford, R. L.; Huynh, V.-B.; *Methods Enzymol.* **1988,** 161, 264.
20. Sinitsyn, A. P.; *Bioconvesion of lignocellulose materials,* Nauka: Moscow, 1995.
21. Soloviev, V. A.; Malysheva, O. N.; Maleva, I. L.; Saplina, V. I.; Chemical composition alterations under lignin degrading action

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

of fungi, *Woods chemistry* **1986,** 6, 94.

22. Stepanova, E. V.; Koroleva, O. V.; Vasilchenko, L. G.; Karapetyan, K. N.; Landesman, E. O.; Yavmetdinov, I. S.; Kozlov, I. P.; Rabinovich, M. L.; Degradation of oats straw during liquid-phase and solid-phase cultivation, *Applied Biochemistry and Microbiology* **2003**, 39(1), 74.
23. Tuor, U.; Winterhalter, K.; Fiechter, A.; Enzymes of white-rot fungi in lignin degradation and ecological determinants for wood decay, *J. of Biotechnology* **1995,** 41, 1.
24. Vasilchenko, L. G.; Karapetyan, K. N.; Yachkova, S. Ch.; Zernova, E. S.; Rabinovich, M. L.; Llignin-carbohydrate substrate degradation by soil fungi producers of laccase and cellulobiosodehydrogenases, *Applied biochemistry and microbiology* **2004,** 40(1), 51.
25. Xu, F.; Laccase. Flickinger, M. C.; Drew, S. W.; *Encyclopedia of bioprocess technology: fermentation, biocatalysis, bioseparation,* John Wiley & Sons, Inc., 1999.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 1. *Maximal level of enzyme activity during superficial cultivation on different nutrient media in the absence of (control) and presence of straw (test)*

Enzyme		1	2	3	4	5	6	7	8
Laccase	control	2.86	2.04	4.9	2.08	0.036	0.018	0.012	0.027
	test	1.34	7.54	1.7	0.88	7.03	4.2	0.33	0.033
Peroxidase	control	1.51	1.07	70.88	94.13	0	0.62	0.02	1.51
	test	0.99	18.41	14.4	83.00	114.06	165.22	1.35	0.86
Polyfunctionl peroxidase	control	116.29	5.08	16.6	-*	0	0.1	0.036	1.51
	test	3.08	9.05	4.14	-*	27.08	108.96	0.22	3.18
Lignin peroxidase	control	0.002	0.009	0.01	0.04	0.001	0.005	0.01	-*
	test	0.07	0.07	4.25	0.54	0.046	0.021	0.27	-*
Aryl-alcohol oxidase	control	0.0028	0.014	-*	0.52	-*	-*	-*	-*
	test	0.045	0.074	-*	0.04	-*	-*	-*	-*

1 – *Coriolopsis caperata*

2 – *Pleurotus pulmonarius*

3– *Steccherinum murashkinskyi*

4 – *Trametes hirsuta*

5 – *Byssomerulius avellaneus*

6 – *Trametes versicolor*

7– *Irpicodon pendulus*

8 – *Xerula radicata*

Mean discrepancy does not exceed 10%, mean of 9 experiments

-* - measurements were not made

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 2. *Oat straw composition during surface cultivation in liquid medium***

Strain	Time, days	Hemi-cellulose reduction, %	Cellulose reduction %	Lignin reduction, %	Straw reduction, %	Ic=C/(C+L)	Ic (mean)
Pleurotus	29	4.7	35.9	15.5	12.1	0.70	0.64
pulmonarius	47	25.3	38.0	21.6	14.4	0.57	
Coriolopsis	29	10.9	31.5	18.5	12.0	0.67	0.61
caperata	47	38.0	38.3	22.7	14.6	0.54	
Steccherinum	29	33.0	36.9	16.8	12.8	0.82	0.82
muraskinskyi	47	34.9	36.2	20.1	13.5	0.81	
Xerula radicata	47	25.3	18.3	5.3	6.3	0.80	0.80
Byssomerulius	29	40.7	16.1	9.6	12.3	0.75	0.68
avellaneus	47	47.7	24.9	12.9	13.0	0.62	
Trametes	29	34.1	10.6	4.2	5.5	0.71	0.67
versicolor	47	37.6	24.0	3.6	12.3	0.64	
Irpicodon	29	37.1	8.4	5.9	10.4	0.61	0.59
pendulus	47	38.7	9.3	6.2	11.4	0.57	
Trametes hirsuta	29	23.1	32.5	23.2	12.4	0.62	0.65
	47	35.2	39.8	23.4	14.7	0.67	
Trametes	29	10.8	27.1	7.5	8.4	0.78	0.80
maxima	47	34.4	29.4	8.0	11.5	0.82	

*Measurement error did not exceed 15%, mean of the 3 tests.

**Nylon net was used during the tests to prevent fungi from growing into the straw.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 3.*The analysis of straw components reduction and fungi biomass during solid-phase fermentation of the studied basidiomycetes* (moisture content 90%)*

Strain	Time, days	Hemicellulose reduction, %	Cellulose reduction, %	Lignin reduction, %	Water soluble celluloses reduction, %	Straw mass reduction, %	I_c	I_c (mean)
Pleurotus pulmonarius	29	64.0	24.0	24.2	15.4	26.7	0.49	0.48
	47	63.9	51.6	35.9	45.3	31.6	0.47	
Coriolopsis caperata	29	58.7	24.6	24.4	53.6	21.1	0.51	0.50
	47	43.2	49.1	31.9	54.7	32.2	0.49	
Steccherinum muraskinskyi	29	49.9	26.9	22.7	49.6	26.0	0.48	0.49
	47	48.4	49.8	32.2	53.5	29.5	0.50	
Xerula radicata	29	69.3	15.1	10.5	63.5	10.3	0.48	0.5
	47	66.6	10.7	11.5	60.1	18.1	0.52	
Byssomerulius avellaneus	29	22.8	43.2	26.3	58.0	24.0	0.48	0.49
	47	60.0	50.8	30.5	39.5	25.8	0.50	
Trametes versicolor	29	27.5	4.1	5.5	98.9	6.9	0.49	0.49
	47	52.0	6.6	8.7	87.3	8.3	0.48	
Trametes hirsuta	29	21.1	28.1	28.6	22.2	28.6	0.42	0.47
	47	38.9	53.7	38.9	53.3	31.8	0.50	
Trametes maxima	29	17.9	53.8	23.7	44.4	27.4	0.44	0.46
	47	38.9	52.5	35.4	61.1	32.7	0.47	

* Measurement error did not exceed 15%, mean of the 3 tests.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

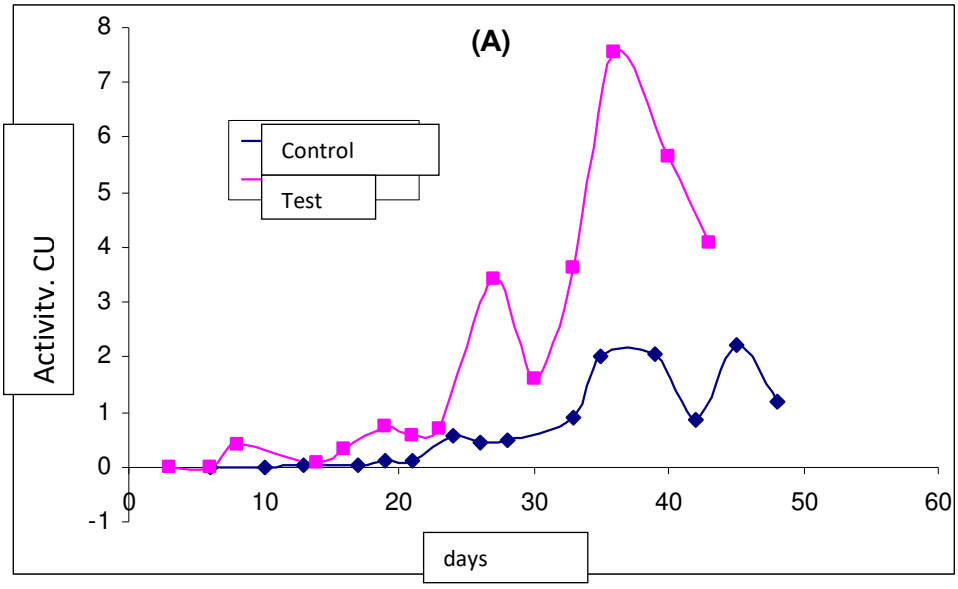


Figure 1. *Laccase dynamics activity during surface cultivation of Pleurotus pulmonarius on straw containing medium*

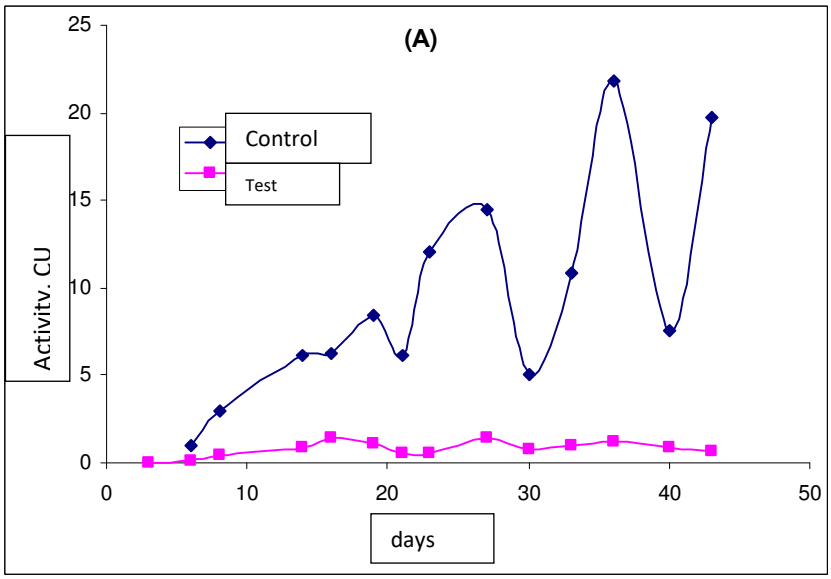


Figure 2. *Dynamics of laccase activity of Coriolopsis caperata during surface cultivation*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

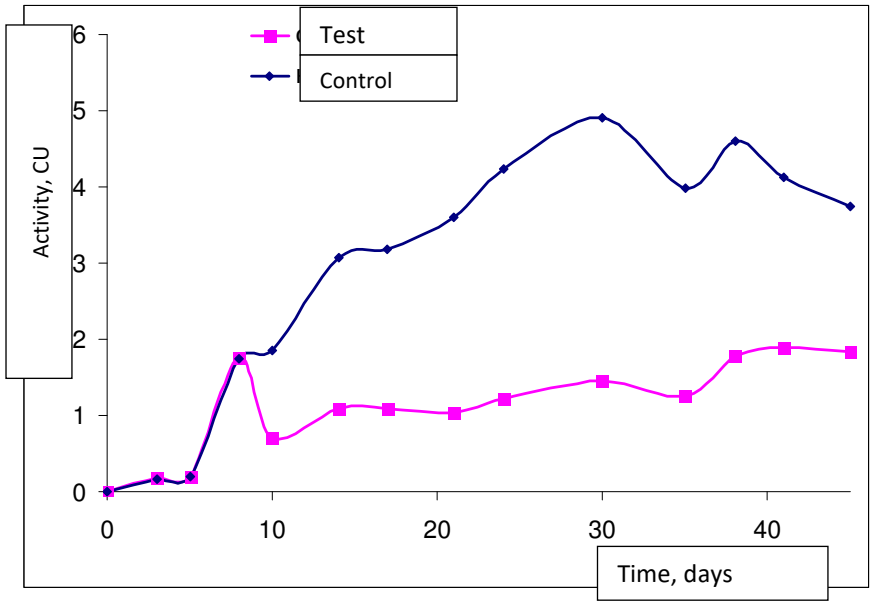


Figure 3. *Dynamics of laccase activity of Steccherinum murashkinskyi during liquid-phase cultivation*

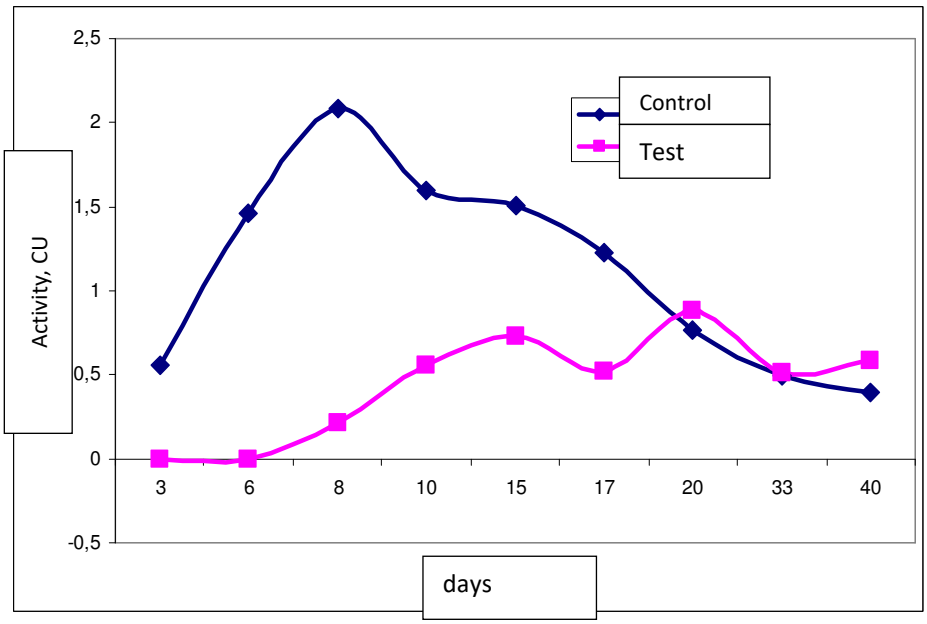


Figure 4. *Dynamics of laccase activity of Trametes hirsuta during liquid-phase cultivation*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil



Figure 5. *Steccherinum murashkinskyi solid-phase cultivation on straw containing medium*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

PROPRIEDADES DA BASE ÁCIDA DE CETONAS NÃO SATURADAS OBTIDAS DA REACÇÃO DA 5-FORMIL-8-HIDROXIQUINOLINA COM ACETOFENONAS P-SUBSTITUÍDAS

ACID-BASE PROPERTIES OF α,β-UNSATURATED KETONES OBTAINED FROM REACTION OF 5-FORMYL-8-HYDROXYQUINOLINE WITH P-SUBSTITUTED ACETOPHENONES

FERNANDEZ-MAESTRE, Roberto*[1]; MARRUGO-GONZÁLEZ Alonso J.[2]

[1,2] Universidad de Cartagena, Programa de Química, Campus de San Pablo, Cartagena, Colombia Tels. 5-6698180. Fax 5-6698323

** Corresponding author*
e-mail: rfernandezm@unicartagena.edu.co

Received 30 October 2018; received in revised form 18 December 2018; accepted 22 December 2018

RESUMO

Chalconas (cetonas α,β-insaturadas) contendo radicais aromáticos ou heterocíclicos são altamente reativas, permitindo a síntese de novos compostos orgânicos. Neste estudo, as constantes de dissociação (pKa) de sete calconas derivadas de 8-hidroxiquinolina foram determinadas e a influência na dissociação de substituintes no grupo (-CH_3, -OCH_3, -$N(CH_3)_2$, -Cl, -Br, e -NO_2) foi analisado. Os valores de pKa são importantes porque determinam o pH ao qual os ligantes são totalmente desprotonados - quando mostram suas propriedades quelantes máximas - e determinam as interações dos ligantes em diferentes valores de pH. Os pKa de chalconas foram calculados por espectroscopia ultravioleta visível em uma mistura de água-etanol (1: 1) usando a equação de Henderson-Hasselbach. Foi demonstrado que o fragmento 8-hidroxiquinolico tem um grande efeito doador de electrs no sistema π das chalconas. A introdução de substituintes (R) no fragmento fenílico das chalconas afetou levemente a dissociação do grupo hidroxila e a protonação do nitrogênio no fragmento hidroxiquinolina. Os substituintes aceitadores (Cl, Br, NO_2) aumentaram a polaridade de OH- e sua acidez. A protonação de nitrogênio diminuiu as propriedades doadoras de elétrons desse fragmento, e a desprotonação do hidroxila causou o efeito oposto. A introdução de substituintes no fragmento fenílico afetou levemente a dissociação do grupo hidroxila e a protonação do nitrogênio.

Palavras-chave: cetonas α,β-insaturadas, chalconas, 8-hidroxiquinolina, constantes de dissociação

ABSTRACT

Chalcones (α,β-unsaturated ketones) containing aromatic or heterocyclic radicals are highly reactive, allowing the synthesis of novel organic compounds. In this study, the dissociation constants (pKa) of seven chalcones derived from 8-hydroxyquinoline were determined and the influence on dissociation of substituents in the phenyl group (-CH_3, -OCH_3, -$N(CH_3)_2$, -Cl, -Br, and -NO_2) was analysed. pKa values are important because they determine the pH at which ligands are fully deprotonated -when they show their maximum chelating properties- and determine the ligands interactions at different pH values. The chalcones' pKa's were calculated by visible ultraviolet spectroscopy in a water-ethanol (1:1) mixture using the Henderson-Hasselbach equation. It was shown that the 8-hydroxyquinolinic fragment has a large electron donor effect on the π system of the chalcones. The introduction of substituents (R) in the phenyl fragment of the chalcones slightly affected the dissociation of the hydroxyl group and the protonation of the nitrogen in the hydroxyquinoline fragment. The acceptor substituents (Cl, Br, NO_2) increased the polarity of OH^- and its acidity. Nitrogen protonation decreased electron donor properties of this fragment, and deprotonation of the hydroxyl caused the opposite effect. Substituents introduction in the phenyl fragment slightly affected hydroxyl group dissociation and nitrogen protonation.

Keywords: α,β-unsaturated ketones, chalcones, 8-hydroxyquinoline, dissociation constants

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUCTION

Chalcones containing aromatic or heterocyclic radicals have attracted the attention of researchers mainly due to their high reactivity, which allows the synthesis of new organic compounds (Khalil *et al.*, 1988; Kovtun *et al.*, 2003; Kovtun *et al.*, 2004). These chalcones can be prepared from 8-hydroxyquinoline (Figure 1), which transfers them its chelating properties:

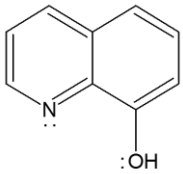


Figure 1. Structure of 8-hydroxyquinoline

The atoms responsible for its chelating properties are the oxygen and nitrogen, with which it forms complexes, oxyquinolinates, with many elements. 8-Hydroxyquinoline, as a weak base in acid medium, is strongly protonated and found in cationic form, while the concentration of the anionic form is low. However, many metals react, even in an acid medium, with 8-hydroxyquinoline substituting the hydroxyl hydrogen, forming a coordinated bond with the nitrogen producing a stable five-member cyclic chelate (Figure 2) (Vinogradov and Elinson, 1979):

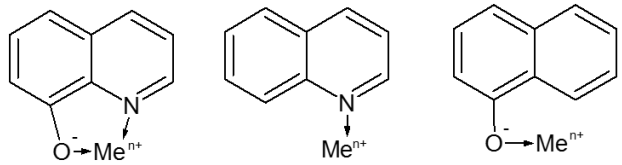


Figure 2. Metal complexes (Me) with 8-hydroxyquinoline (left), quinoline (centre) or α-naphthol (right).

These complexes are more stable than those of quinoline or α-naphthol. This shows that the stability of oxyquinolinates is determined by both groups (-N = or R-OH), which form a cyclic chelate (Vinogradov and Elinson, 1979).

8-hydroxyquinoline is one of the most used organic reagents in analytical chemistry and its interaction with more than half of the elements of the periodic table, metals and non-metals, has been studied (Daneshfar *et al.*, 2012; Ahmed *et al.*, 1998). 8-hydroxyquinoline was proposed as an analytical reagent (Hahn, 1926; Hahn *et al.*, 1927; Berg, 1927a, 1927b). Modified silica gel was used to anchor 8-hydroxyquinoline using 5-formyl-8-hydroxyquinoline as reagent; the modified silica was applied to the preconcentration of metals and its determination by flame atomic absorption spectrometry (Goswami *et al.*, 2003).

8-hydroxyquinoline and its derivatives arise interest for their coordination capacity and their use as metal ion chelators and are precursors for obtaining metallochromic dyes that change their hue depending on the bound metal or pH and can be used as indicators for complexometric or acid-base titrations. The so-called merocyanine dyes and their complexes with transition metal ions have been obtained from 5-formyl-8-hydroxyquinoline (Kovtun *et al.*, 2003; Kovtun *et al.*, 2004). At the same time, the conjugation of the hydroxyquinoline fragment and the highly reactive enonic fragment in chalcones opens up a broad perspective for the synthesis of new organic compounds with expedited chelating properties (Khalil *et al.*, 1988; Kovtun *et al.*, 2003; Kovtun *et al.*, 2004).

Complexometry still arise attention in the scientific community and numerous metals continue to be determined using various chelators (Dapporto *et al.*, 2000; Ambrosi *et al.*, 2007; Ambrosi *et al.*, 2009). Although many derivatives have been used as chelators in different types of titration, there are no known applications of these chalcones as chelators for any type of titration. Metal titrations by complexometry traditionally use ethylenediaminotetraacetic acid (EDTA) when the metal concentrations are 0.001 M or greater; these titrations have the advantage that EDTA has a low environmental impact, is economical, easy to handle and stable. In addition, complexation reactions with EDTA are rapid, stoichiometric and quantitative, and their formation constants are generally high, which produces sharp titration curves. However, EDTA is not selective because titrations determine the total concentration of all the metals and usually cannot titrate solutions with a concentration of less than 0.001 M. In addition, most indicators are unstable, they bind irreversibly with some metals, so they must be back titrated (Skoog *et al.*, 2014) and have unclear colour changes. For these reasons, new chelators for complexometric titrations are always welcome in analytical chemistry. Other applications of these chelators are masking and preconcentration, extracting metals from a large aqueous phase volume to a smaller organic phase volume and oxidation-reduction reactions that produce coloured

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

compounds that can be determined spectrophotometrically (Worsfold *et al.*, 2013).

1.1 Determination of dissociation constants

The most convenient method to determine dissociation constants is potentiometric titration (Albert, 2012). The spectrophotometric method is useful for poorly soluble substances, as well as for working with very small or very large pH values, where the use of glass electrodes is useless. This method can be used only when the substance absorbs light outside the absorption maxima of its ionic forms (Bates and Vijh, 1973). In general, the absorption spectra of acids or organic bases depend on the solution pH because the spectra of the ionic forms differ from those of the neutral ones. When a base B is dissolved in an acidic medium, AH, the following equilibrium is established:

$$AH + B \rightleftharpoons BH^+ + A^- \qquad \text{(Equation 1a)}$$

The degree of transition from B to BH^+ depends on the solution's pH and on the acid-base strengths of B and AH. The quantitative characteristic of the base strength is the basicity constant, that is, the equilibrium constant of the ionization reaction of the base, which measures its ability to accept a proton. Ionization is a process of equilibrium administered by the law of mass action; it is possible to characterize this process by means of the dissociation constant of BH^+, the conjugate acid of base B (Alexandrov, 1981):

$$BH \rightleftharpoons B + H^+ \qquad \text{(Equation 1b)}$$

$$K_a = \frac{a_{H^+} a_B}{a_{BH^+}} \qquad \text{(Equation 2)}$$

Where a is the activity of the species. Equation 2 yields the Henderson-Hasselbach equation:

$$pK_a = pH - \log \frac{a_B}{a_{BH^+}} \qquad \text{(Equation 3)}$$

To find the ratio of the activities of the base and the conjugate acid, the spectrophotometric method is used, provided that the absorption of the base differs from that of the conjugate acid. At any wavelength the absorbance of the solution is the sum of the absorbances of the species present:

$$A = \varepsilon_B C_B l + \varepsilon_{BH^+} C_{BH^+} l \qquad \text{(Equation 4)}$$

Where ε is the molar absorptivity; C the molar concentration and l the thickness of the solution layer or size of the absorption cell. According to Equation 4, the ratio of the concentration of the base and the conjugate acid can be described by:

$$\frac{C_B}{C_{BH^+}} = \frac{\mathrm{A_{A^-}} - \mathrm{A}}{\mathrm{A} - \mathrm{A_{HA}}} \qquad \text{(Equation 5)}$$

For diluted solutions, the ratio of the activities is equal to the ratio of the molar concentrations; replacing (5) in (3) we obtain:

$$pK_a = pH + \log \frac{\mathrm{A_{A^-}} - \mathrm{A}}{\mathrm{A} - \mathrm{A_{HA}}} \qquad \text{(Equation 6)}$$

Equation 6 is valid for any wavelength except for those that correspond to the isosbestic point of the system and is the main equation for all the spectrophotometric pKa determinations. For pKa calculation, the molar absorptivities of the base and the conjugated acid at a random wavelength are required, and the absorbance, concentration and pH, at the same wavelength (Bernstein and Kaminsky, 1986).

The absorbance depends on this pH only in a narrow range where the concentrations of both forms are comparable to each other, around pH values similar to the pKa. This limits the pH changes where changes in absorption can be observed, depending on the sensitivity of the instrument. The determination of pKa using Equation 6 is carried out in several stages. The spectra of the molecule and the ionic species must be obtained at the analytical wavelength. Normally, it is the wavelength in which the absorption difference of the two species, neutral and ionic, is maximum; for example, the maximum absorption of only one of the forms, either neutral or ionic. Sometimes, a series of wavelengths is used to improve accuracy; more often, one is used where $\varepsilon_B > \varepsilon_{BH^+}$ and another where $\varepsilon_B < \varepsilon_{BH^+}$. With the selected wavelengths, the values ε_B and ε_{BH^+} are determined (Bernstein and Kaminsky, 1986).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

To determine pKa accurately, it is necessary to prepare a series of buffered solutions with a certain pH value. The absorption spectra are obtained at the same temperature of pH measurement. The calculated values of pKa in the series should be discarded if their variation exceeds ± 0.06. The equilibrium constants of a reaction depend on the temperature, so it must be kept constant in the laboratory. The constants calculated in this way are not thermodynamic values, pK_a^T. To obtain thermodynamic constants the ionic strength of the solution, I, must be taken into account. At 20 °C, the correction is obtained with the following equation (Bernstein and Kaminsky, 1986):

$$pK_a = pK_a^T \pm \frac{0.5\sqrt{I}}{1+1.6\sqrt{I}} \quad \text{(Equation 7)}$$

Where the negative sign is for acids, and the positive for bases.

The spectrophotometric method for the determination of the acid-base equilibrium is easy if ε_B and ε_{BH}^+, at any wavelength, are significantly different and there are no environmental effects, that is, if there are no shifts of absorption bands and changes in ε_B and ε_{BH}^+ not related to protonation. If these conditions are not met, special pKa measurement techniques are required (Bernstein and Kaminsky, 1986).

The present work investigates the acid-base equilibria of chalcone derivatives obtained from 5-formyl-8-hydroxyquinoline, with scarce references in the literature, limited to our studies (Marrugo-González *et al.*, 2012, 2015, 2016).

MATERIALS AND METHODS

The methodology for the synthesis of chalcone **4a**-**g** derivatives (Figure 3) has been reported, as well as the physicochemical, antifungal and NMR, UV-vis and IR spectra of these substances (Marrugo-González *et al.*, 2012). A summary of the synthesis and the IUPAC name for **4a** are presented in electronic supplementary information.

2.1 Spectrophotometric titration `

The dissociation constants were measured in a water-ethanol mixture (1:1). pH was controlled with a glass electrode. Solutions of the organic ligands (chalcones **4a**-**g,** about 10^{-5} M) were prepared adding sulfuric acid or NaOH to obtain the neutral, protonic and anionic species. The absorption spectra were taken at each pH.

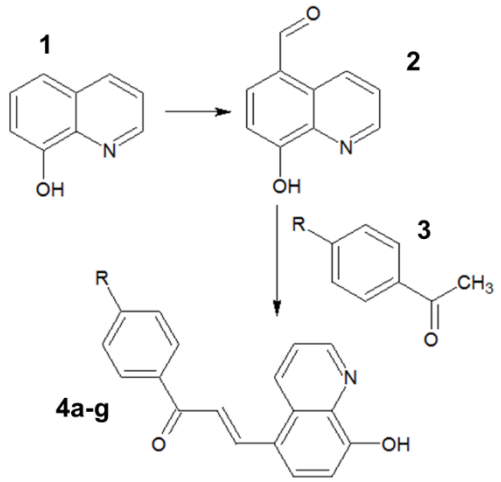


Figure 3. Synthesis of chalcones **4a**-**g**. R = -CH_3, -OCH_3, -$N(CH_3)_2$, -Cl, -Br, and -NO_2 for compounds **4a**, **4b**, **4c**, **4d**, **4e**, **4f** and **4g**, respectively (Marrugo-González *et al.*, 2012).

2.2 Calculation of dissociation constants

Dissociation constants were calculated with the software TITR (A.O. Doroshenko, Institute of Chemistry, National University of Karazin, Ukraine), specially designed for these purposes. TITR implements the Fletcher-Powell algorithm by the nonlinear least squares method with the minimization of the sum of the squares of the deviations between experimental and calculated absorbances. For the analysis, 20-25 wavelengths were selected. Then, the software calculates the values of the constants simultaneously to 20-30 "sectors" of each series of spectra with an iterative method (Bernstein and Kaminsky, 1986) using Equation 6. The basis of the calculation is the selection of the sigmoidal curve, calculated according to Equation 6, which best matches the curve obtained with the experimental points. The degree of concordance of the curves is determined by the correlation coefficient between the experimental data and the theoretical curve that, after the iterations, should yield 0.990-0.999. Input files were typed by hand.

From Equation 6 we find equations 9 and 10 that yield the values of the dissociation constants:

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

$$A_{HA^-} = A + \left(A - A_{H_2A}\right)\cdot 10^{(pK_{a1}-pH)} + \left(A - A_{A^{2-}}\right)\cdot 10^{(pH-pK_{a2})} \quad (Equation 8)$$

$$pK_{a1} = -\log\left[\frac{A_{H_2A} - A}{\left(A - A_{A^{2-}}\right)\cdot 10^{(pH-pK_{a2})} + A - A_{HA^-}}\right] + pH \quad (Equation\ 9)$$

$$pK_{a2} = -\log\left[\frac{\left(A - A_{HA^-}\right)\cdot 10^{(pH-pK_{a1})} + A - A_{H_2A}}{\left(A_{A^{2-}} - A\right)\cdot 10^{(pH-pK_{a1})}}\right] + pH \quad (Equation\ 10)$$

Where A_{H_2A}, A_{HA^-} y $A_{A^{2-}}$, are the absorbances of the solutions if there were only H_2A, HA^- and A^{2-} (for example, $A_{H_2A} = \varepsilon_{H_2A} C_0 l$) and A is the total solution absorbance at each of the pH values of the experiment (from 1 to 7), $A = l\sum_{i=1}^{m} \varepsilon_i C_i$ (Bernstein and Kaminsky, 1986). Standard deviations and confidence intervals were determined for the constants according to the student's t criterion with p = 95%. The constants were weighted averaged for each of the wavelengths as statistical weights.

2.3 Materials, instruments and reagents

Merck and MolLabs reagents, analytical grade (≥ 98%) were used. For absorptiometric titrations, a S2100 UV$^+$ Cole Parmer spectrophotometer and an Orion 940 potentiometer with a glass electrode for pH measurements were used. The potentiometer was calibrated with aqueous buffer solutions (pH 4.01, 6.86, 9.18, 12.45).

RESULTS AND DISCUSSION

Table S1 (electronic supplementary information) shows the boiling temperature, formula, percentage of nitrogen and spectral properties of chalcones **4a**-**g** and the reaction yield of their synthesis. The structure of chalcones **4a**-**g** is given in the Experimental section.

Molecules **4a**-**g** possess at least two acid-base centres: the nitrogen atom, capable of accepting a hydrogen ion, as well as the hydroxyl, capable of dissociating. Compound **4d** also contains a dimethylamino substituent on the phenyl fragment, capable of protonation. By increasing the acidity of solutions of **4a-g**, the proton is bound to the nitrogen and the intensity of the band corresponding to the neutral form of **4a**-**g** decreases (~ 390 nm, Figures 4 and 5, and Table 1) due to the reduction of the charge transfer from the nitrogen to the conjugated system.

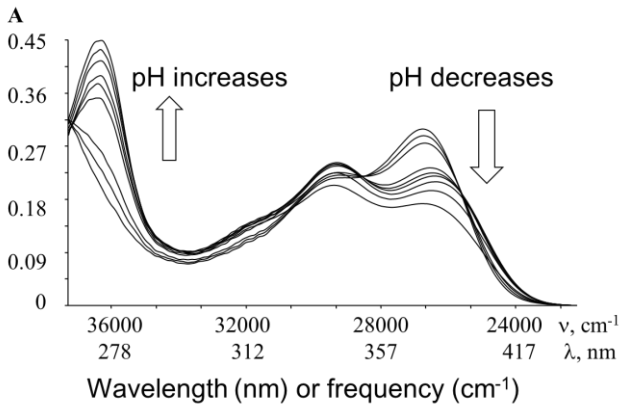


Figure 4. Chalcone **4e** absorption spectra at pH values from 1 to 7

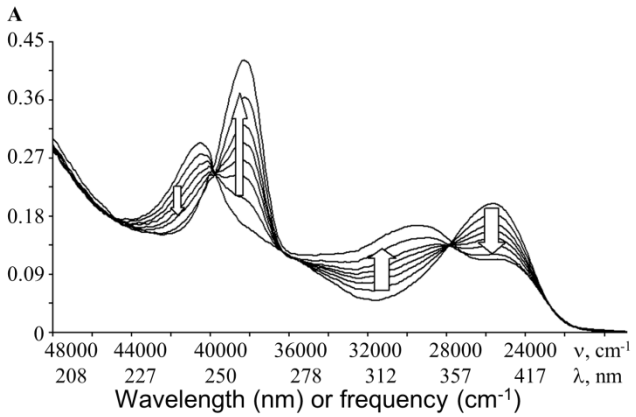


Figure 5. Absorption spectrum of chalcone **4d** by increasing the acidity of the solution from pH 1-7 (indicated by the arrows).

The dissociation constants of chalcones **4a-4d** are in a narrow range of values, 3.1 ± 0.1 (Table 1). This is a further confirmation that the phenyl and hydroxyquinolinic fragments are cross-conjugated (Figure 6) and hardly affect each other. In other words, the introduction of electron donor or acceptor substituents in the phenyl fragment has little effect on the electron availability of the heteroatoms and, therefore, has little effect on the dissociation constants. Only important differences are observed for chalcone **4d**, with the dimethylamino substituent, one of the

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

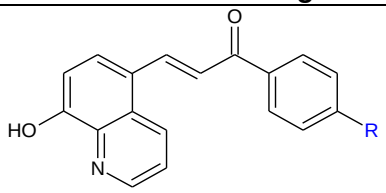
strongest electron donors. The dimethylamino group weakens the acceptor properties of the carbonyl, affecting the charge distribution in the hydroxyquinoline fragment, which is reflected in its pKa values of 3.50 and 9.83, the most basic of the series. The nitro-substituted chalcone, **4g**, also departs from the behaviour of this series due to its strongly electron-accepting character that reduces the charge in the carbonyl group, and attracts the electron density of hydroxyquinoline increasing acidity; this is reflected in its pKa values of 2.64 and 8.5, the most acidic in the series (Table 1).

For **4d**, the shape of the spectra changes mainly by the introduction of the additional proton-acceptor centre of the dimethylamino group. This provides an additional equilibrium, seen in a third pKa (4.0 ± 0.1, Table 1).

In a conjugated system, the dimethylamino group strengthens the charge transfer and produces a bathochromic shift in the absorption band at long wavelength. In the case of cross-conjugation in **4d**, this influence manifests in a band change of about 1500 cm^{-1} compared with other compounds of this series (Table 1, from 25520 to 24120 cm^{-1} with respect to **4a**). Apparently, for this same reason, no significant spectral changes are recorded when **4d** is protonated (Figure 5). In addition, due to the acceptor property of the carbonyl group, the basicity of the dimethylamino group (pK_{a2} 4.0, **4d**, Table 1) decreases compared to dimethylaniline (Figure 6), pKa 4.4 (Alexandrov, 1981).

The influence of the R substituents (Figure 4) on the dissociation of the hydroxyl group is only somewhat significant. The introduction of acceptor substituents (Cl, **4e**; Br, **4f**; and NO_2, **4g**) increases the polarity of the hydroxyl group, which decreases pK_{a2} from 9.26 (**4a**) to 9.1 (**4f**), 9.0 (**4e**) and 8.5 (**4g**). At the same time the electron donor dimethylamino group reduces the mobility of the hydroxyl group protons and increases pK_{a2} from 9.26 (**4a**) to 9.36 (**4b**), 9.5 (**4c**) and 9.8 (**4d**) (Table 1).

Table 1. Spectral characteristics and acid-base properties of chalcones **4a-g**



№	R	Species	Absorption		
			λ, nm	*ε x10*	pK_a
4a	H	Neutral	389	2140	
		Cation	392	1106	3.13 ±0.05
		Anion	484	3450	9.26 ±0.07
4b	CH_3	Neutral	384	2360	
		Cation	393	1170	3.18 ±0.05
		Anion	484	2904	9.36 ±0.08
4c	OCH_3	Neutral	383	1700	
		Cation	393	1040	3.14 ±0.02
		Anion	482	2530	9.5 ±0.1
4d	$N(CH_3)_2$	Neutral	414	3391	
		Cation1	415	2340	3.5 ±0.1
		Cation2	-	-	4.0 ±0.1
		Anion	481	3160	9.83 ±0.02
4e	Cl	Neutral	389	2200	
		Cation	393	1380	3.3 ±0.1
		Anion	495	3840	9.0 ±0.1
4f	Br	Neutral	390	1280	
		Cation	387	920	3.2 ±0.1
		Anion	491	1190	9.1 ±0.1
4g	NO_2	Neutral	400	1860	
		Cation	429	1050	2.6 ±0.1
		Anion	492	2620	8.5 ±0.1

Figure S1 (Supplementary information) shows the graph of α values, made with Curtipot, (Gutz, 2018), which indicates the distribution of species of **4d** and **4a** according to pH. The graphs for **4b**, **4c**, **4e**, **4f** and **4g** are similar to **4a**

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

but with a slight difference in the position of the lines intersections, which indicate when the pH values are equal to the chalcone's pK_a.

.

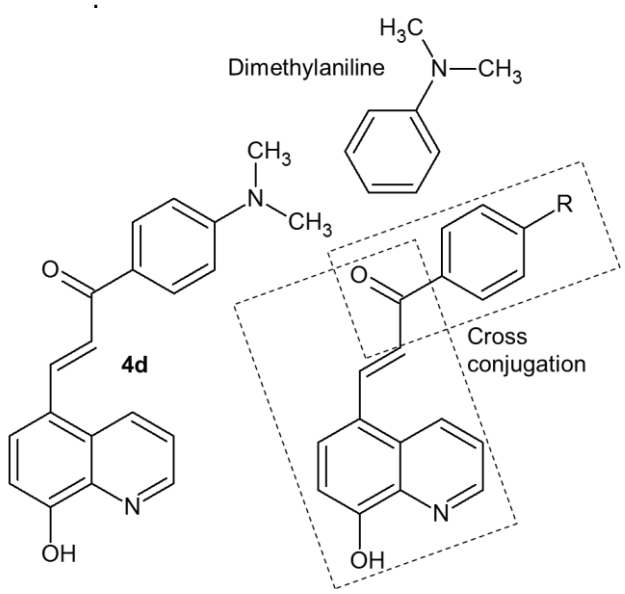


Figure 6. Comparison of chalcone 4d with dimethylaniline and cross-conjugation in chalcones **4a**-**g**.

CONCLUSIONS

The dissociation constants of chalcones **4a**-**g** were calculated and changes in the wavelengths and intensity of the bands demonstrated that the 8-hydroxyquinoline fragment has an electron donor effect on the π system of the whole molecule. The most important basic centre of **4a**-**g** was the nitrogen atom of the hydroxyquinoline fragment. Its protonation destroyed the intramolecular hydrogen bridge formed with the hydroxyl group and was reflected only slightly in the electronic distribution of the molecule. On the other hand, deprotonation, accompanied by phenolate formation, caused an increase in electronic properties (the bathochromic effect in the absorption spectra of the anionic forms was greater than 100 nm).

The introduction of substituents (R) in the phenyl fragment slightly affected the dissociation of the hydroxyl group and the protonation of the nitrogen. Acceptor substituents (Cl, Br, NO_2) increased the polarity of the hydroxyl group, which increased the acidity of the hydroxyl proton. Among the electron donor groups, dimethylamino was the one that most decreased the acidity of the hydroxyl proton. These studies are important for the development of new chelating materials. Future studies will aim to introduce new substituent groups to these chalcones.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the kind collaboration of Drs. Jesus Olivero-Verbel and Jairo Mercado-Camargo. This research did not receive any specific funding.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Distribution of species of **4a** and **4d** according to pH values; physicochemical properties of **4a**-**g** and reaction yields; synthesis of **4a**.

REFERENCES

1. Ahmed, I., Ahmed, B., Ahmed, A., El-Roudi, O.M., *J. Chem. Engin. Data*, **1998**, 43, 459.
2. Albert, A., *The determination of ionization constants*: A laboratory manual, Springer: Amsterdam, **2012**.
3. Alexandrov, V.V., *The acidity of aqueous solutions*, Visha Shkola, Kharkiv, Kiev, Ukraine, **1981**, in Russian. https://www.twirpx.com/file/2560990/
4. Ambrosi, G., Formica, M., Fusi, V., Giorgi, L., Guerri, A., Micheloni, M., Paoli, P., Pontellini, R., Rossi, P., *Inorg. Chem*., **2007**, 46, 4737.
5. Ambrosi, G., Formica, M., Fusi, V., Giorgi, L., Macedi, E., Micheloni, M., Paoli, P., Rossi, P., *Inorg. Chem*., **2009**, 48, 10424.
6. Bates, R.G., Vijh, A.K., *J. Electrochem. Soc*. **1973**, 120, 263C.
7. Berg, R., *Fresen. Z. Anal. Chem.* **1927**, 70, 347; *Fresen. Z. Anal. Chem.* **1927**, 71, 380.
8. Bernstein, I.Y., Kaminsky, Y.L., *Spectrophotometric Analysis in Organic Chemistry.* Khimiya: Leningrad, **1986**, in Russian. https://www.twirpx.com/file/249490/
9. Daneshfar, A., Ghaedi, M., Vafafard, S., Shiri, L., Sahrai, R., Soylak, M., *Biol. Trace Elem*., Res. **2012**, 145, 240.
10. Dapporto, P., Formica, M., Fusi, V., Micheloni, M., Paoli, P., Pontellini, R.,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Romani, R., Rossi, P., *Inorg. Chem*., **2000**, 39, 2156.

11. Goswami, A., Singh, A.K., Venkataramani, B., *Talanta*, **2003**, 60, 1141.
12. Gutz, I.G.R. *Curtipot software*, Instituto de Quimica, Universidade de São Paulo, **2018**. http://www.iq.usp.br/gutz/Curtipot.html
13. Hahn, F.L., *Z. Angew. Chem.,* **1926**, 39, 1198.
14. Hahn, F.L., Vieweg, K., *Fresen. J. Anal. Chem*. **1927**, 71, 130.
15. Khalil, Z.H., Abdel-Hafez, A.A., Yanni, A.S., *Bull. Chem. Soc. Jap*., **1988**, 61, 4143.
16. Kovtun, Y.P., Prostota, Y.O., Tolmachev, A.I., *Dyes Pigments*, **2003**, 58, 83.
17. Kovtun, Y.P., Prostota, Y.O., Shandura, M.P., Poronik, Y.M., Tolmachev, A.I., *Dyes Pigments*, **2004**, 60, 215.
18. Marrugo-González, A.J., Orlov, V.D., Fernandez-Maestre, R., *J. Chil. Chem. Soc.* **2012**, 57, 1287.
19. Marrugo-González, A.J., Orlov, V.D., Fernandez-Maestre, R., *J. Tche Quim.* **2015**, 24, 51.
20. Marrugo-González, A.J., Orlov, V.D., Fernandez-Maestre, R., *J. Tche Quim.* **2016**, 13, 14.
21. Skoog, D.A., West, D.M., Holler, F.J., Crouch, S.R., *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 9th edition, Cengage Learning: USA, **2014**.
22. Vinogradov, A.V., Elinson, S.V., *Hydroxyquinoline,* Science, **1979**, in Russian
23. Worsfold, P.J., Clough, R., Lohan, M.C., Monbet, P., Ellis, P.S., Quétel, C.R., Floor, G.H., McKelvie, I.D., *Anal. Chim. Acta*, **2013**, 803, 15.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Supplementary material

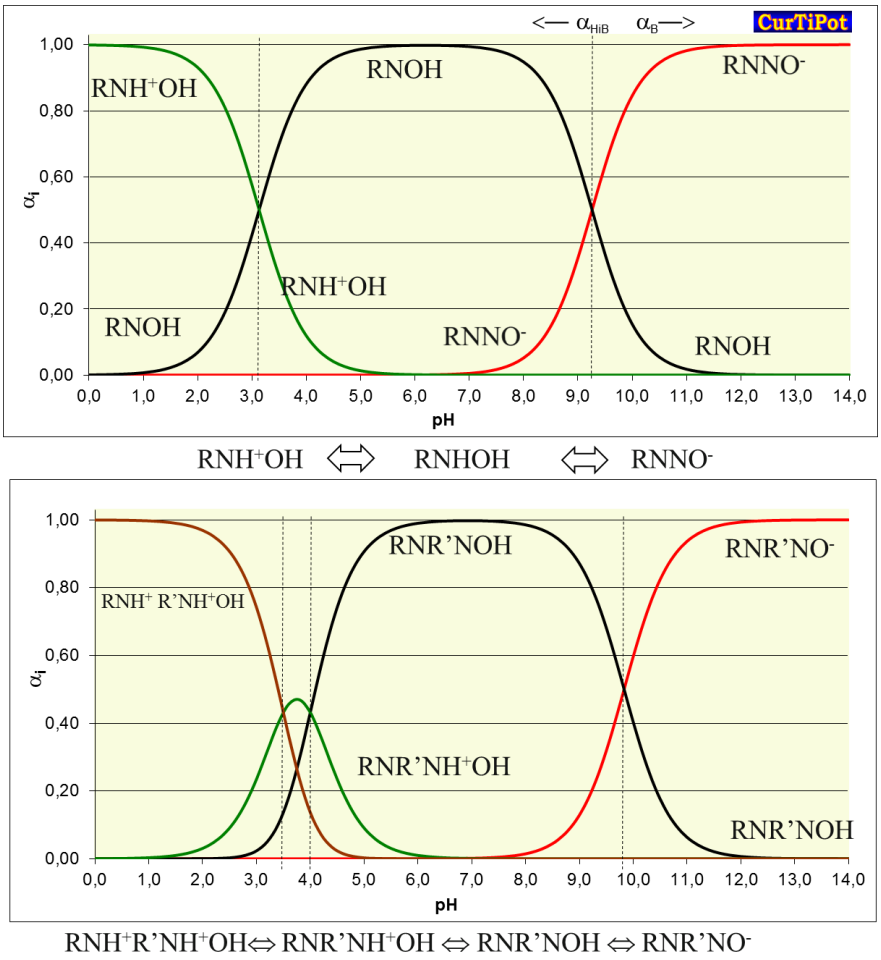


Figure S1. Distribution of species of **4a** (top) and **4d** (bottom) according to pH values (Gutz, 2017). The dotted lines indicate when pH = pKa. R': dimethylamino fragment in **4d**; R: **4a**, **4b**, **4c**, **4f**, **4g** or **4d** minus the dimethylamino fragment.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table S1. Physicochemical properties of chalcones **4a**-**g** and reaction yields (Marrugo *et al.*, 2012).

Species	R	Boil. Temp. ºC [1]	% Yield/ hour [2]	Formula	%N Experimental/ %N theoretical	ν, cm^{-1}	
						C=O	O-H
4a	H	165	70/8	$C_{18}H_{13}NO_2$	5.09/5.12	1656	3304
4b	CH_3	162-5	28/7	$C_{19}H_{15}NO_2$	4.84/4.97	1656	3175
4c	OCH_3	155-7	70/8	$C_{19}H_{15}NO_3$	4.59/4.63	1652	3188
4d	$N(CH_3)_2$	210	23/15	$C_{20}H_{18}N_2O_2$	8.80/8.72	1644	3312
4e	Cl	170-2	70/4	$C_{18}H_{12}ClNO_2$	4.52/4.58	1652	3288
4f	Br	186	70/10	$C_{18}H_{12}BrNO_2$	3.95/3.49	1652	3288
4g	NO_2	205-7	20/22	$C_{18}H_{12}N_2O_4$	8.75/8.83	1652	3250

[1] Boiling temperature. [2] Yield after crystallization from ethanol / Reaction time in hours

Synthesis of 3-(8-hydroxyquinolin-5-yl)-1-phenylprop-2-en-1-one (4a)

To a solution of (**2**) (0.016 moles) in hot concentrated hydrochloric acid (50 ml) acetophenone (**3**) was added (0.033 moles); the solution was stirred for 8 hours and the precipitate, as hydrochloride, was washed with ether, neutralized with 0.1 mol/L aqueous sodium acetate, and recrystallized from ethanol. Chalcones **4a**-**g** were obtained by exchanging acetophenone for the corresponding reagent. The reactions were monitored by thin layer chromatography. The chromatograms were developed on Silufol UV-254 plates using acetic acid as diluent. The plates were developed with ultraviolet light or iodine. The structure of the molecules was clarified with UV-VIS, IR and NMR spectroscopy and their purity was demonstrated by measuring their physicochemical parameters and by gas chromatography coupled with mass spectrometry (Marrugo *et al.*, 2012).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

5-ACETIL-8-HIDROXIQUINOLINA E 5-FORMIL-8-HIDROXIQUINOLINA: AGENTES CHELANTES PARA TITULAÇÕES COMPLEXOMÉTRICAS

5-ACETYL-8-HYDROXYQUINOLINE AND 5-FORMYL-8-HYDROXYQUINOLINE: CHELATING AGENTS FOR COMPLEXOMETRIC TITRATIONS

FERNANDEZ-MAESTRE, Roberto*[1]; MARRUGO-GONZÁLEZ Alonso J.[2]

[1,2] Universidad de Cartagena, Programa de Química, Campus de San Pablo, Cartagena, Colombia Tels. 5-6698180. Fax 5-6698323

** Corresponding author*
e-mail: rfernandezm@unicartagena.edu.co

Received 30 October 2018; received in revised form 18 December 2018; accepted 22 December 2018

RESUMO

Complexos metal-ligantes orgânicos são essenciais para muitos desenvolvimentos tecnológicos, desde montagens supramoleculares de proteínas até extração por solventes, titulações complexométricas e remediação ambiental. Foram estudadas as propriedades quelantes e ácido-base em etanol de dois derivados de 8-hidroxiquinolina (Q), 5-acetil-8-hidroxiquinolina (A) e 5-formil-8-hidroxiquinolina (F), das quais aplicações como quelantes são desconhecidas. A acidez dos ligantes seguiu a ordem **F** (pK_{a1} 2.9; pK_{a2} 9.5)> **A** (pK_{a1} 4.8; pK_{a2} 9.6)> Q (pK_{a1} 5.3; pK_{a2} 10.0) devida aos efeitos indutivos de grupos eletronegativos, formila em **F** e acetila em **A**. A maior acidez de **F** em relação a **A** foi devida à maior eletronegatividade do grupo formila em **F**. Esta ordem de acidez foi refletida nas maiores constantes de formação de complexos F-metal com valores de pKf de 32 (Fe^{3+}), 27,1 (Cu^{2+}), 26,2 (Zn^{2+}) e 24,9 (Pb^{2+}), do que com **A**, com valores pKf de 31, 22,5, 21,4 e 21.2 com estes metais, ou os valores de pKf na literatura para **Q**. Em resumo, **A** e **F** resultaram em excelentes quelantes para metais em titulações complexométricas com grandes constantes de formação; estas grandes constantes de formação recomendam a aplicação destes compostos em mascaramento, pré-concentração e titulação de metais por complexação e reações de oxidação-redução.

Palavras-chave: hidroxiquinolina, titulações complexométricas, constantes de dissociação, constantes de formação, absorividades molares

ABSTRACT

Metal–organic ligand complexes are essential to many technological developments from protein supramolecular assemblies to solvent extraction, complexometric titrations, and environmental remediation. We studied the chelating and acid-base properties in ethanol of two derivatives of 8-hydroxyquinoline (**Q**), 5-acetyl-8-hydroxyquinoline (**A**) and 5-formyl-8-hydroxyquinoline (**F**), of which applications as chelators are unknown. The ligands acidity followed the order **F** (pK_{a1} 2.9; pK_{a2} 9.5)> **A** (pK_{a1} 4.8; pK_{a2} 9.6)> **Q** (pK_{a1} 5.3; pK_{a2} 10.0) due to inductive effects of electronegative groups, formyl in **F** and acetyl in **A**. The higher acidity of **F** with respect to **A** was due to the higher electronegativity of the formyl group in **F**. This acidity order was reflected in larger formation constants of **F**-metal complexes with pK_f values of 32 (Fe^{3+}), 27.1 (Cu^{2+}), 26.2 (Cu^{2+}), and 24.9 (Pb^{2+}), than with **A**, with pK_f values of 31, 22.5, 21.4 and 21.2 with these metals, or the pK_f values in the literature for **Q**. In summary, **A** and **F** resulted excellent chelators for metals in complexometric titrations with large formation constants; these large formation constants recommend the application of these compounds in masking, preconcentration, and titration of metals by complexation and oxidation-reduction reactions.

Keywords: hydroxyquinoline, complexometric titrations, dissociation constants, formation constants, molar absorptivities

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUCTION

Complexometry of metals with organic ligands find applications in numerous scientific accomplishments including complexometric titrations, solvent extraction, preconcentration and other analytical applications, investigation in protein and nucleic acids supramolecular assemblies, and environmental remediation. **Q** derivatives with keto groups in position 5, such as **A** and **F** (Figure 1) have a hydroxyquinolinic system conjugated with a carbonyl group. Literature reports of **F**, **A**, and derivatives of these are limited. Among these, derivatives of **A**, 2-pyrazolines, oxazolines, pyridines, pyrimidines (Khalil *et al.*, 1991) and α,β-insaturated ketones containing aromatic or heterocyclic radicals (chalcones, which show a varied physiological activity) (Khalil *et al.*, 1991; Dhar, 1981; Balaji *et al.*, 2003; Patil *et al.*, 2009; Clemo and Howe, 1955; Matsumura *et al.*, 1960; Misra, 1973; Khalil *et al.*, 1988) are found. Furthermore, conjugation of the hydroxyquinolinic fragment and the highly reactive enonic fragment in **A** and **F**, opens a wide perspective for the synthesis of new organic compounds with expedited chelating properties.

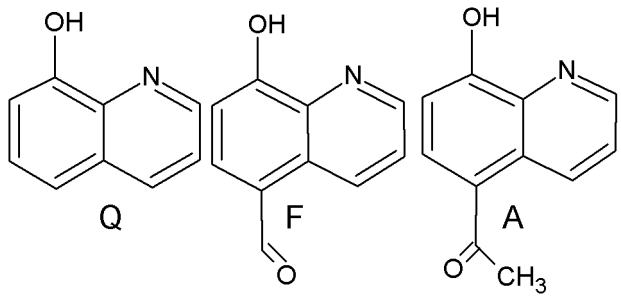


Figure 1. *Structures of chelating agents (ACD/ChemSketch)*

There are no known applications of **A** and **F** as chelating agents for any type of titration although many derivatives have been used as chelating agents (Amish *et al.*, 2012). Traditionally, titrations of metals by complexation reactions are performed using ethylenediaminotetraacetic acid (EDTA) when metal concentrations are 0.001 mol/L or higher. These titrations have the advantage that EDTA has little environmental impact and low cost, and is easy to handle and stable. In addition, EDTA-metal reactions are rapid, quantitative and stoichiometric, and their formation constants are generally large which produce very sharp titration curves. However, EDTA is not selective (titrations determine the total concentration of the metals in solution), and typically cannot titrate metal concentrations lower than 0.001 mol/L. Furthermore, most indicators are unstable, several of them bond irreversibly to metals so they should be back-titrated, (Skoog *et al.*, 2006) and have unclear color changes.

For these reasons, other methods as electrochemical or spectrophotometric techniques are used for endpoint detection which allow a decrease in detection limits and titration of environmental samples where metal concentration is lower. Additionally, selective chelating agents have been developed for certain metals; **Q** has been used as a chelating agent for divalent transition metals (Ahmed *et al.*, 1998). This area of analytical chemistry continues attracting interest and many metals are still determined using various chelating agents (Dapporto *et al.*, 2000; Ambrosi *et al.*, 2007; Ambrosi *et al.*, 2009). For example, Th^{4+} has been titrated using bromocresol orange (BCO)-cetylpyridinium bromide (CPB) as indicator in a concentration range of 0.02-2.6 mg L^{-1}. The color of the ternary complex Th:BCO:CPB was used for the selective determination of Th^{4+} in the presence of many transition metals and a pK_f of 12.0 was found with the indicator and a molar absorptivity, ε, of 9.2 x 10^4 L mol^{-1} cm^{-1} at 560 nm (Khalifa and Hafez, 1998). In other experiments, **Q** was anchored on silica gel using **F** as reagent; modified silica was applied to metal preconcentration and determination by flame atomic absorption spectrometry (Goswami *et al.*, 2003).

We studied the compounds **A** and **F** as chelating agents for metal complexometric titrations with spectrophotometric end point detection and determined their dissociation constants and formation constants with Fe^{3+}, Cu^{2+}, Zn^{2+}, and Pb^{2+}.

MATERIALS AND METHODS

2.1 Synthesis of A and F

We prepared **A** and **F** from **Q** and identified them by ^1H NMR, IR, melting temperature, and elemental analysis (Marrugo-González *et al.*, 2012).

2.2 Method validation and pH effect

Optimum conditions were sought for the experiments, including pH and absorption

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

wavelengths for metal-ligand complexes of **Q**, **A** and **F**, where metals and free ligands did not absorb. Titration curves with spectrophotometric endpoint have linear portions that are extrapolated to obtain the stoichiometric endpoint. The absorbance was corrected for the dilution that involves addition of titrant. This was done by multiplying the absorbance by the factor (V + v)/V, where V is the original sample volume and v is the total volume of analyte added when absorbance was measured. To determine the concentration of solutions of **Q**, **A** and **F**, these solutions were titrated (2.00 ml) with a standard solution of Fe^{3+} using a 250-μl syringe unless otherwise specified. Titrations were conducted in the spectrophotometer cells to avoid losses or contamination by transfers between containers. Stirring was achieved with a magnetic stirrer and the introduction of a small magnet cut to size into the cell.

A parameter of our complexometric titrations was pH; the sharpness of the spectrophotometric end point is expected to increase with pH when using acid-base chelating agents such as **Q**, **A** and **F**. Metal titrations were performed at pH values of 2, 4, 6, 8 and 10 using a 250-μl syringe to evaluate the effect of protonation extent of **A** and **F** in the sharpness of the end point. The solutions were buffered using alcoholic solutions of chloroacetic acid-sodium chloroacetate (pH 2), acetic acid-sodium acetate (pH 4 and 6), and ammonia-ammonium chloride (pH 8 and 10).

2.3 Dissociation Constants

The dissociation constants of **Q**, **A** and **F** were obtained by measuring the pH values of solutions of these compounds during potentiometric titrations with NaOH using a glass electrode, prior to the corresponding equivalence point by the Bjerrum ñ (n-bar) method (Billo, 2001), Solutions of **Q**, **A** and **F** in ethanol (5.00 ml 0.0100 mol/L) were diluted with ethanol (to 25.00 ml). These solutions (2.00 ml) were titrated with 0.100M NaOH. Before titrations, HCl (10.00 ml 0.0100 mol/L) was added to **Q**, **A** and **F** solutions to acidify. All solutions were prepared and diluted in ethanol.

2.4 Formation Constants

Total formation constants were obtained using Bjerrum´s method, which is based on the competition of a metal with the ligand protons at low pH. In this method, the formation constant, Kf, corresponding to the equilibrium $M^{n+} + xL <=> ML_x^{n+}$, is calculated:

$$Kf = \frac{[ML_x^{n+}]}{[M^{n+}][L]^x}$$

ML_x^{n+} concentration was calculated from the absorbance, A, and the molar absorptivity, ε through the Beer-Lambert equation, $A = [ML_x^{n+}]\varepsilon b$, where b is the length of the cell, 1 cm; $[M^{n+}]$, the free metal concentration, is the initial metal concentration minus the ML_x^{n+} concentration. [L'], the concentration of all species of L (L^-, L, L^+), is the initial concentration of L minus $x[ML_x^{n+}]$. The concentration of free ligand, L, was calculated with α, the molar fraction: $\alpha = [L]/[L']$; α was calculated with the pH values of solutions of L and its pKa. In Bjerrum´s method several solutions are prepared with identical concentrations of the same metal and ligand at different acid pH values; then, pH and the absorbance of these solutions are measured. In our study, we prepared solutions of **Q**, **A** and **F** (25.00 ml $2.00x10^{-3}$ mol/L or lower) in ethanol and pH was changed by adding NaOH or HCl. The molar absorptivity was measured in an independent experiment at pH> 10 (Billo, 2001), at which most ligand was deprotonated and formed the major amount of the complex. The stoichiometry of complexes was determined by spectrophotometric titrations.

2.5 Materials, Instruments and Reagents

Standard solutions of Fe^{3+}, Cu^{2+}, Zn^{2+}, and Pb^{2+} were prepared from 1000.0 ppm stock solutions (Merck and MolLabs). The synthesis of **A** and **F** has been reported (Marrugo-González *et al.*, 2012). For titrations, An UV S2100+ Cole Parmer spectrophotometer and an Orion 940 potentiometer with a glass electrode were used. For accuracy, pH values were recorded when drift was less than ±1 mV per minute much less than that suggested by the manual instructions (<±3 mV per minute). The potentiometer was calibrated with buffer solutions of pH 2, 4, 7 and 10.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

RESULTS AND DISCUSSION

Q was used to compare its properties with those of its derivatives **A** and **F**. We compared the acid dissociation constants of **Q**, **A** and **F** and their formation constants with transition metals.

3.1 Determination of the concentration of Q, A and F solutions

These concentrations were determined by spectrophotometric titrations with standard Fe^{3+} solutions. Figure 2b shows the endpoint of a titration curve of **F** with Fe^{3+}, the intersection of the linear portions extrapolations. These results were confirmed by acid-base titration of **Q**, **A** and **F** solutions.

3.2 Spectrophotometric titrations with Q

Figure 3 shows the UV-visible spectra of $1.00x10^{-4}$ mol/L solutions of **Q**, Pb^{2+}, and PbQ_2^{2+} at pH 4. Pb^{2+} solutions was titrated between 360 and 380 nm because the peak of PbQ_2^{2+} at this wavelength did not overlap with the peaks of **Q**, ethanol, or Pb^{2+}. In this way, the wavelengths to titrate **Q**, **A** and **F** solutions with other metals were found. Figures 4 and 5 show the corresponding spectra for Fe^{3+} at different pH values.

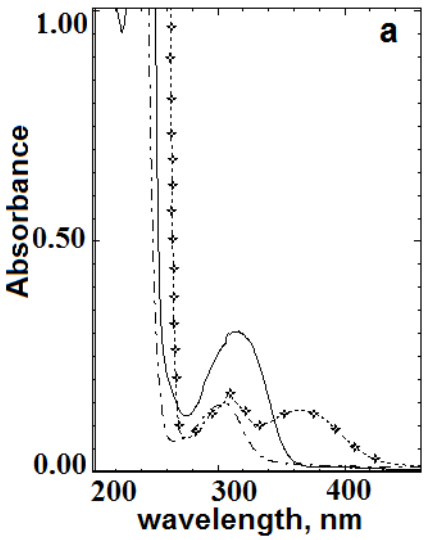


***Figure 3**. UV-visible spectra of $1.00x10^{-4}$ mol/L solutions of **Q** (—), Pb^{2+} (– - –), and PbQ_2^{2+} (✧) at pH 4 (a). **Q** solutions were titrated with Pb^{2+} at 370 nm where the metal complex absorbed but not **Q**; the spectra of **Q** and Pb^{2+} did not interfere, nor that of ethanol.*

3.3 Spectrophotometric titrations with F

Figure 4 shows the UV-visible spectra of **F**, Fe^{3+} and $Fe(F)_3^{3+}$ solutions at pH 2, 4, 6, 8 and 10. At 600 nm, only $Fe(F)_3^{3+}$ absorbed but not Fe^{3+} or **F** therefore titrations of **F** with Fe^{3+} were performed at this wavelength. Moreover, the sharper end point allows **F** to be better titrated with Fe^{3+} at pH 6 as explained in the discussion of Figure 6.

3.4 Spectrophotometric titrations with A

Figure 5 shows the UV-visible spectra of **A**, Fe^{3+}, and $Fe(A)_3^{3+}$ at pH 2, 6, 8, and 10. At 600 nm, only $Fe(A)_3^{3+}$ absorbed but not Fe^{3+} nor **A** so that the titration of **A** with Fe^{3+} was performed at 600 nm. Also, the titration of **A** with Fe^{3+} was better at pH 6 for the sharper end point as explained in the discussion of Figure 6.

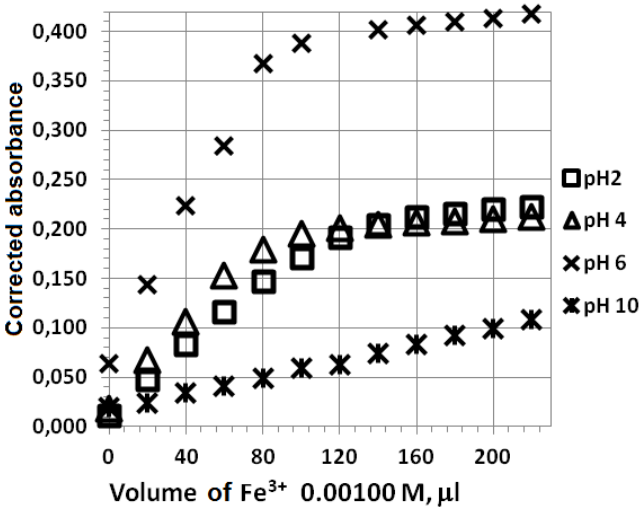


***Figure 6**. Effect of pH on the potentiometric titration of $1.2x10^{-3}$ mol/L solutions of **A** with Fe^{3+} 0.00100 mol/L in ethanol. The absorbance increased up to pH 6 and then decreased, probably because at acidic pH, **A** was not fully deprotonated and at alkaline pH, Fe^{3+} precipitated as hydroxide. The best pH for titration was 6.*

Figure 6 shows the effect of pH on the shape of the titration curves of **A** with Fe^{3+} in ethanol. The absorbance of the product, $Fe(A)_3^{3+}$, increased up to pH 6 and then decreased at higher pH values, probably due to a combination of two antagonistic factors: at acidic pH values, complexing of Fe^{3+} with **A** was incomplete because deprotonation is low and at alkaline pH values Fe^{3+} precipitated as hydroxide and did not allow a proper observation of the endpoint. The

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

best pH for titration of **A** with Fe^{3+} was 6, because the change in absorbance and the inflection at the end point were larger than at other pH values due to a balance of the two factors mentioned above. These results were consistent with the findings of Moeller (1943) who found that Fe^{3+}, Cu^{2+}, and other metal ions were not extracted at very acidic or very alkaline pH values but intermediate ones (Moeller, 1943). In this way, wavelengths and pH values for titrations of **F** with metals were selected.

3.5 Molar absorptivities

Table 1. Molar absorptivities, ε, ($x10^4$) in L cm^{-1} mol^{-1} for the absorption peaks of Fe^{3+}, Cu^{2+}, Zn^{2+}, and Pb^{2+} complexes with **Q**, **A** and **F** in ethanol. Wavelengths in nm at which measurements were made appear in brackets. Measurements were made saturating **Q**, **A** and **F** with metal so that complex concentration was stoichiometric.

Metal	ε, ($x10^4$) in L cm^{-1} mol^{-1}		
	Q	**A**	**F**
Fe^{3+}	0.87(380)	2.4(366)	2.2(380)
Cu^{2+}	0.48(382)	1.8(380)	1.9(400)
Zn^{2+}	0.47(375)	1.2(395)	0.78(380)
Pb^{2+}	0.78(380)	2.6(380)	1.4(380)

Table 1 shows the molar absorptivities (ε) for the absorption peaks of Fe^{3+}, Cu^{2+}, Zn^{2+}, and Pb^{2+} complexes with **Q**, **A** and **F** in ethanol. Molar absorptivities were measured at pH> 10 where the ligands were considered to be completely deprotonated and the maximum amount of the complex was formed so that the maximum absorbance occurred. ε_{max} was measured at various pH values up to pH> 10 to verify that the maximum absorbance was obtained and was not measured at pH values where the ligands were still protonated. ε_{max} values of $2.4x10^3$ for **Q** (316 nm), $4.7x10^3$ for CuQ_2^{2+} (410 nm), and $4.4x10^3$ for ZnQ_2^{2+} (402 nm) in dimethylsulfoxide have been reported (Monzon *et al.*, 2011). Due to complex formation, there is an increase of ε_{max} and shift to longer wavelengths in these values when passing from **Q** to CuQ_2^{2+} and ZnQ_2^{2+}. Because of the large values (>10^4 L cm^{-1} mol^{-1}), those large ε_{max} values may correspond to charge transfer transitions (Skoog *et al.*, 2006). Wavelengths reported in Table 1 are those used to measure the absorbances to calculate the formation constants (Table 2).

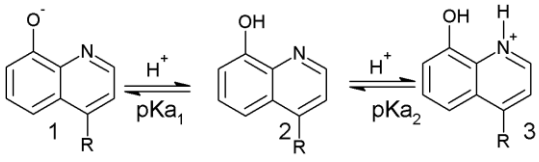
Table 2. Total formation constants (expressed as pK_f) of **A** and **F** complexes with Fe^{3+}, Cu^{2+}, Zn^{2+}, and Pb^{2+} (four upper rows) and dissociation constants (expressed as pKa, two lower rows) of **Q**, **A** and **F**, in ethanol. The calculations used absorbances measured at the wavelengths reported in Table 1. The pKf values are the average of at least three different experiments.

Ion/pK_a	Ligand		
	Q	**A**	**F**
Fe^{+3}	37.8±0.2, 33.9 [A,B]	31±2	32±1
Cu^{+2}	23.7± 0.1, 13.1 [A,B]	22.5±0.7	27.1±0.2
Zn^{+2}	23.3±0.3, 9.36 [A,B]	21.4±0.1	26.2±0.3
Pb^{+2}	22.4±0.1, 9.30 [A,B]	21.2±0.2	24.9±0.4
pK_{a1}	5.3±0.2, 5.06 [C,D] 4.88, [E] 4.91 [F]	4.8±0.2	2.9±0.8 3.97 [G]
pK_{a2}	10.0±0.4, 9.81 [C, D] 9.81 [F]	9.6±0.2	9.5±0.1 11.54 [G]

[A] calculated in 50% dioxane-water; [B] Johnston and Freiser, 1952; [C] Perrin, 1983 (from reference 20); [D] Tsakovski *et al.*, 2002; [E] Irving *et al.*, 1949; [F] Dean, 1999; [G] Takamoto, *et al.*, 1965.

3.6 Dissociation Constants

Acid dissociation constants of **A** and **F** in ethanol are shown in Table 2. Compounds **Q**, **A** and **F** are amphiprotic: they contain a weakly basic pyridine nitrogen and a weakly acidic phenolic group. The species of **A** and **F** which predominate in solution are: RQ^- (basic medium, **1**), RHQ (neutral medium, **2**) and RH_2Q^+ (acid medium, **3**), where R can be H, or acetyl or formyl groups, and **Q** is the 8-hydroxyquinolinic fragment:



Deprotonation reactions of **Q**, **A** and **F** (ACD/ChemSketch version 12).

The first hydrogen that is lost during an

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

acid-base titration of **Q** or its derivatives is bonded to the nitrogen and the second one is that of the hydroxyl group in the ring. Therefore, these compounds should show two endpoints. These hydrogens in **A** and **F** were more acidic than those of **Q** due to the inductive effects of the acetyl and formyl electronegative substituents at position 5 in **A** and **F** that attract electrons from the hydroxyquinolinic ring. In turn, **F** was more acid than **A** because the methyl in the acetyl group provides electrons to the carbonyl group decreasing electron withdrawing from the hydroxyquinolinic ring, a phenomenon similar to that explained before (Tsakovski *et al.*, 2002).

Average dissociation constants in aqueous solution for **Q** reported in the literature were pK_{a1} = 5.06 (hydrogen in the pyridine nitrogen) and pK_{a2} = 9.81 (hydroxyl group) (Tsakovski *et al.*, 2002). In non-aqueous solvents with dielectric constant, D, less than that of water (D = 78.5) such as ethanol (D = 24), **Q** is less acidic because the formation of ions is hindered. The dissociation constants in Table 2 were those expected based on the inductive effect and solvent influence on the proton acidity: the pKa values of **F** (9.5 and 2.9) were lower than those of **A** (9.6 and 4.8). These, in turn, were lower than those reported for **Q** in aqueous solution (9.81 and 5.06) (Tsakovski *et al.*, 2002), and the latter were also smaller than those obtained in our work for **Q** in ethanol (10.0 and 5.3) where lower acidity was expected for these hydrogens than in aqueous solutions.

3.7 Formation constants

The formation constants of Fe^{3+}, Cu^{2+}, Zn^{2+}, and Pb^{2+} with **Q**, **A** and **F** in ethanol (Table 2) were determined by Bjerrum´s method (Billo, 2001). Compounds **A** and **F** formed complexes with large formation constants with divalent and trivalent metals, suitable to titrate metal ion solutions with spectrophotometric endpoint. The stability of metal complexes with **A** and **F** could be explained by their highly basic functional groups. The sequence of complex stability for various divalent metals with a ligand has been shown to be rather inflexible regardless of the ligand used. The order of stability of metal complexes with **Q**, **A** and **F** in ethanol was Fe^{3+} > Cu^{2+} > Zn^{2+} > Pb^{2+} which was consistent with previous findings Johnston and Freiser, 1952) and the Irving-Williams series (Irving and Williams, 1953). Stability constants followed the order **A** < **F**, which was expected from the acidity of the pyridinic and phenolic hydrogens in **A** and **F**.

Table 2 also shows that as the ion charge increased, in the case of Fe^{3+}, the value of the complex formation constant increased due to the larger metal-ligand attraction so the sharpness of the spectrophotometric endpoint also increased, which agrees with the literature (Irving and Williams, 1953). The structure of complexes metal-hydroxyquinoline (MeQ_2^{2+}), that should be similar to the complexed formed by **A** and **F**, has been reported as square planar or tetrahedral (Nicolau and Yoshikawa, 1998).

CONCLUSIONS

In general, **A** and **F** resulted excellent chelating agents for complexometric titrations with large formation constants of metal complexes, especially with Fe^{3+}. Increasing the pH values increased the spectrophotometric endpoint sharpness due to increasing deprotonation of these ligands at alkaline pH which would leave more pairs of free electrons to bond with the metals. However, above certain pH values, endpoint sharpness decreased, possibly due to precipitation of metals as hydroxides. The stability order of metal complexes with **Q**, **A** and **F** in ethanol was Fe^{3+} >Cu^{2+} > Zn^{2+} > Pb^{2+} as the Irving-Williams series. Some issues remain as the large formation constant of FeQ_3^{3+}, and the formation constants for **A** with metals, lower than those for **Q**, which did not agree with the fact that hydrogens in **A** were more acidic than those of **Q**. Because of their large formation constants, these compounds can find potential applications in masking, preconcentration, and titration of metals by complexation and oxidation-reduction reactions.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the kind collaboration of Drs. Jesus Olivero-Verbel and Jairo Mercado-Camargo. This research did not receive any specific funding.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

α values (distribution profiles) for different pH values for compounds Q, A and F.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

REFERENCES

1. Ahmed, I.T., Ahmed, A.A., El-Roudi, O.M., *J. Chem. Eng. Data,* **1998**, 43, 459
2. Ambrosi, G., Formica, M., Fusi, V., Giorgi, L., Guerri, A., Micheloni, M., Paoli, P., Pontellini, R., Rossi, P., *Inorg Chem.,* **2007**, 46, 4737.
3. Ambrosi, G., Formica, M., Fusi, V., Giorgi, L., Macedi, E., Micheloni, M., Paoli, P., Rossi, P., *Inorg Chem.,* **2009**, 48, 10424.
4. Amish, S.I., Hemang, S.M., Purvesh, S.J., Dilipsinh, R.S., *J. Chil. Chem. Soc.,* **2012**, 57, 1472.
5. Balaji, R., Grande D., Nanjundan, S., *React. Funct. Polym.,* **2003**, 56, 45.
6. Billo, E.J., *Excel for Chemists: A Comprehensive Guide*, Wiley-Vch: Weinheim, 2001.
7. Clemo, G.R., Howe, R., *J. Chem. Soc.,* **1955**, 77, 3552.
8. Dapporto, P., Formica, M., Fusi, V., Micheloni, M., Paoli, P., Pontellini, R., Romani, P., Rossi, P., *Inorg Chem.,* **2000**, 39, 2156.
9. Dean, J.A., *Lange's handbook of chemistry,* McGraw-Hill, New York, **1999**.
10. Dhar, D.N. The Chemistry of chalcones and related compounds, Wiley: New York, 1981.
11. Goswami, A., Singh, A.K., Venkataramani, B., *Talanta*, **2003**, 60, 1141.
12. Irving, H., Williams, R.J.P., *J. Chem. Soc.,* **1953**, 3192.
13. Johnston, W.D., Freiser, H., *J. Am. Chem. Soc.,* **1952**, 74, 523.
14. Khalifa, M.E., Hafez, M.A.H. *Talanta*, **1998**, 47, 547.
15. Khalil, Z.H., Yanny, A.S., Abdel-Hafez A.A., Khalaf, A.A. *J. Indian Chem. Soc.*, **1991**, 67, 821. DOI: 10.1002/chin.199149184.
16. Khalil, Z.H., Abdel-Hafez, A.A., Yanni, A.S., Moharam, A.M., *Bull. Chem. Soc. Jpn.,* **1988**, 61, 4143.
17. Marrugo-González, A.J., Orlov, V.D., Fernandez-Maestre, R. *J. Chil. Chem. Soc.,* **2012**, 57, 1287.
18. Matsumura, K., Ito, M., Lee, S.T., *J. Org. Chem.,* **1960**, 25, 854.
19. Misra, S.S., *Monatsh. Chem.,* **1973**, 104, 11.
20. Moeller, T., *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed*., **1943**, 15, 346.
21. Monzon, L.M.A., Burke, F., Coey, J.M.D., *J. Phys. Chem.,* **2011**, C115, 9182.
22. Nicolau, D.V., Yoshikawa, S., *J. Molec. Graph. Modell.,* **1998**, 16, 83.
23. Patil, C.B., Mahajan, S.K., Katti, S.A., *J. Pharm. Sci. & Res.,* **2009**, 1, 11.
24. Tsakovski, S., Benkhedda, K., Ivanova, E., Adams, F.C., *Anal. Chim. Acta*, **2002**, 453, 143.
25. Irving, H., Ewart, J.A.D., Wilson, J.T., *J. Chem. Soc.,* **1949**, 2672.
26. Skoog, D.A., West, D.M., Holler, F.J., Crouch, S.R., *Fundamentals of Analytical Chemistry,* Thomson: Mexico, 2006.
27. Takamoto, S., Fernando, Q., Freiser, H., *Anal. Chem.,* **1965**, 37, 1249

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

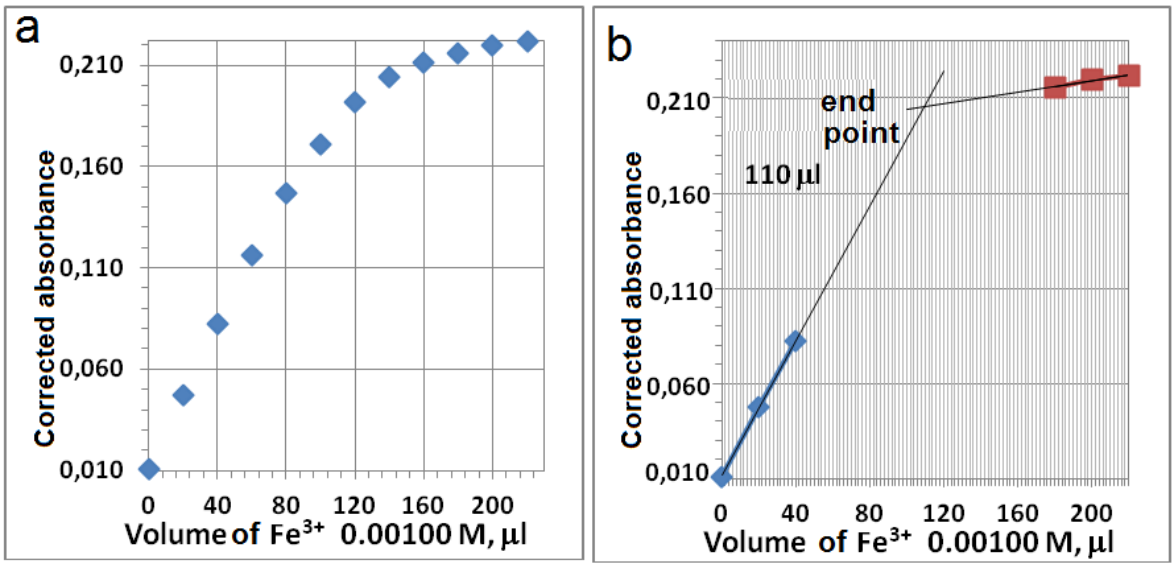


Figure 2. *(a) Potentiometric titration curve of a 1.00x10^{-4} mol/L solution of* ***F*** *with Fe^{3+} 1.00x10^{-3} mol/L at pH 2 and 600 nm. (b) The volume at the end point is the intersection of the linear portions of the titration curve.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

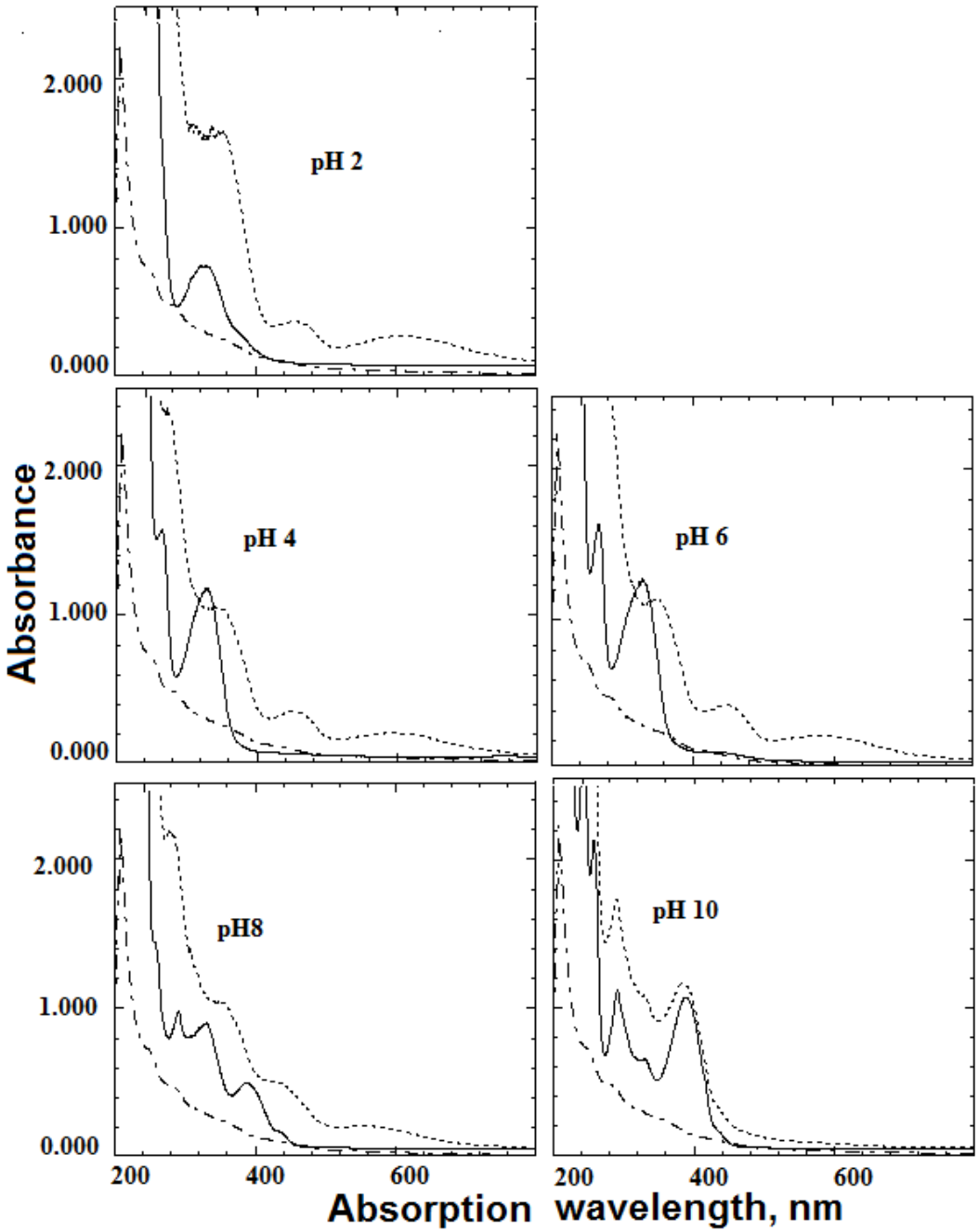


***Figure 4**. UV-visible spectra of **F** (—), Fe^{3+} (– - –) and $Fe(F)_3^{3+}$ (---) solutions at different pH values. Solutions of **F** were titrated with Fe^{3+} at pH 6 and 600 nm where the metal complex absorbed but not **F** nor the free metal.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

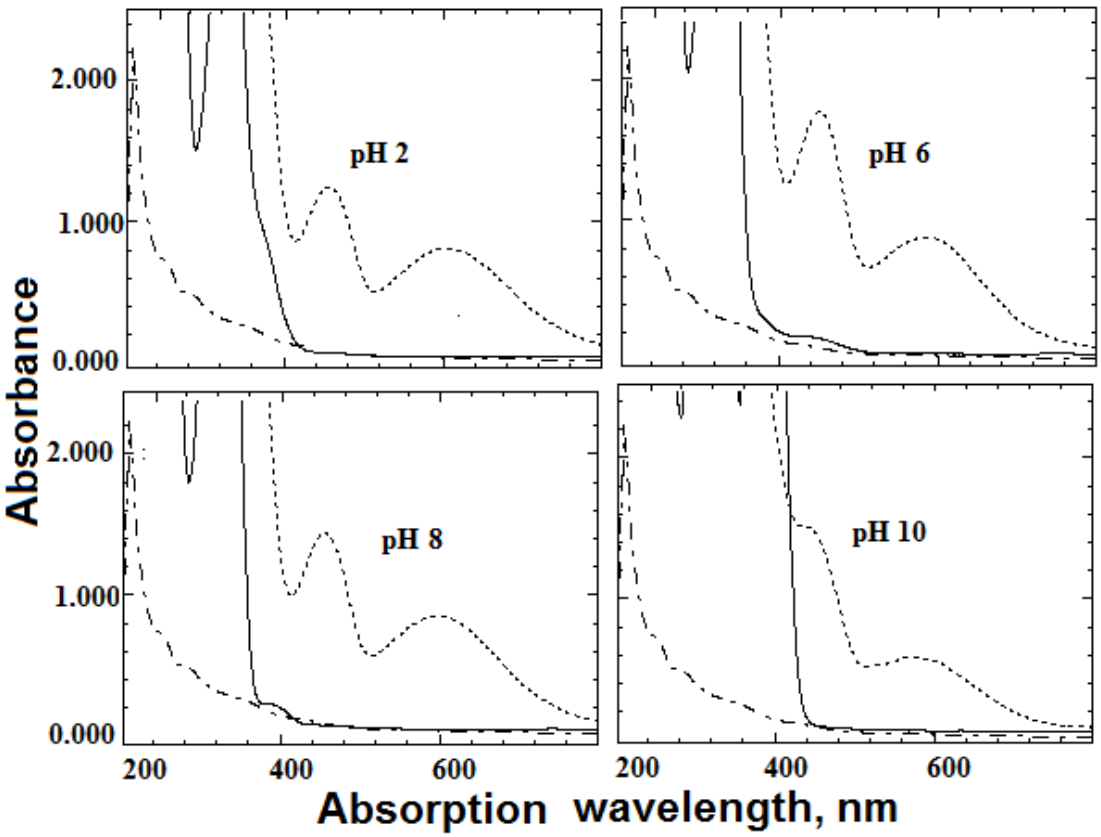
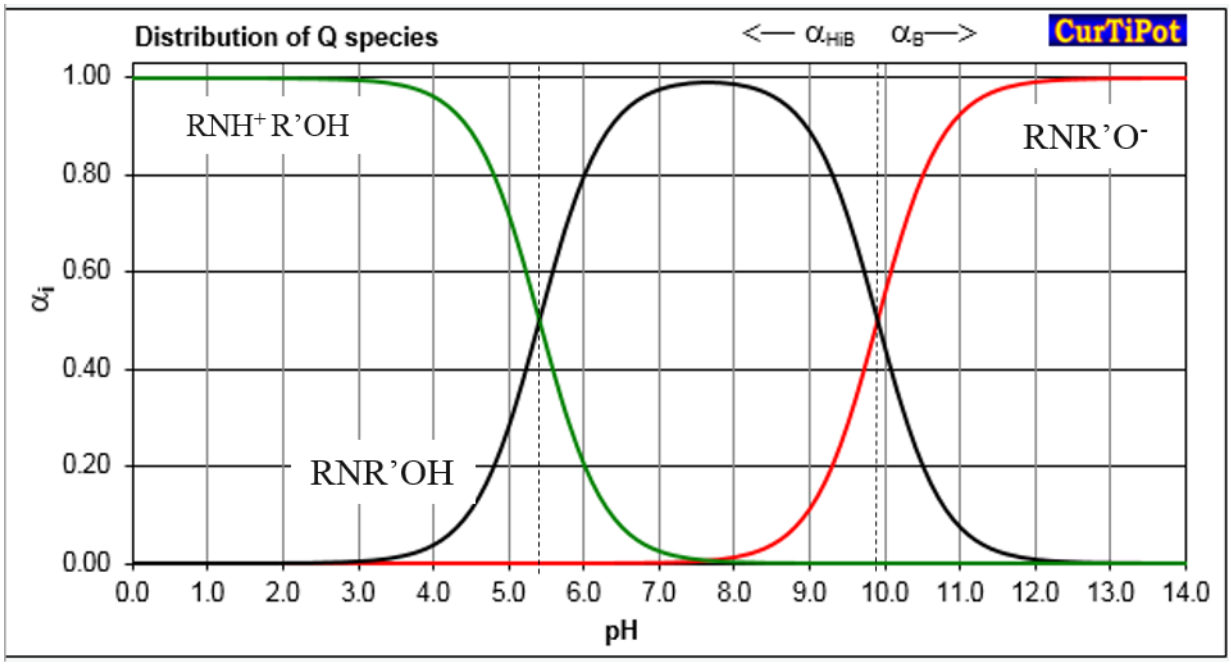


Figure 5. *UV-visible spectra of **A** (—), Fe^{3+} (– - –) and $Fe(A)_3^{3+}$ (---) solutions at different pH values. Solutions of A were better titrated with Fe^{3+} at pH 6 and 600 nm where the metal complex absorbed but not A nor the free metal.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

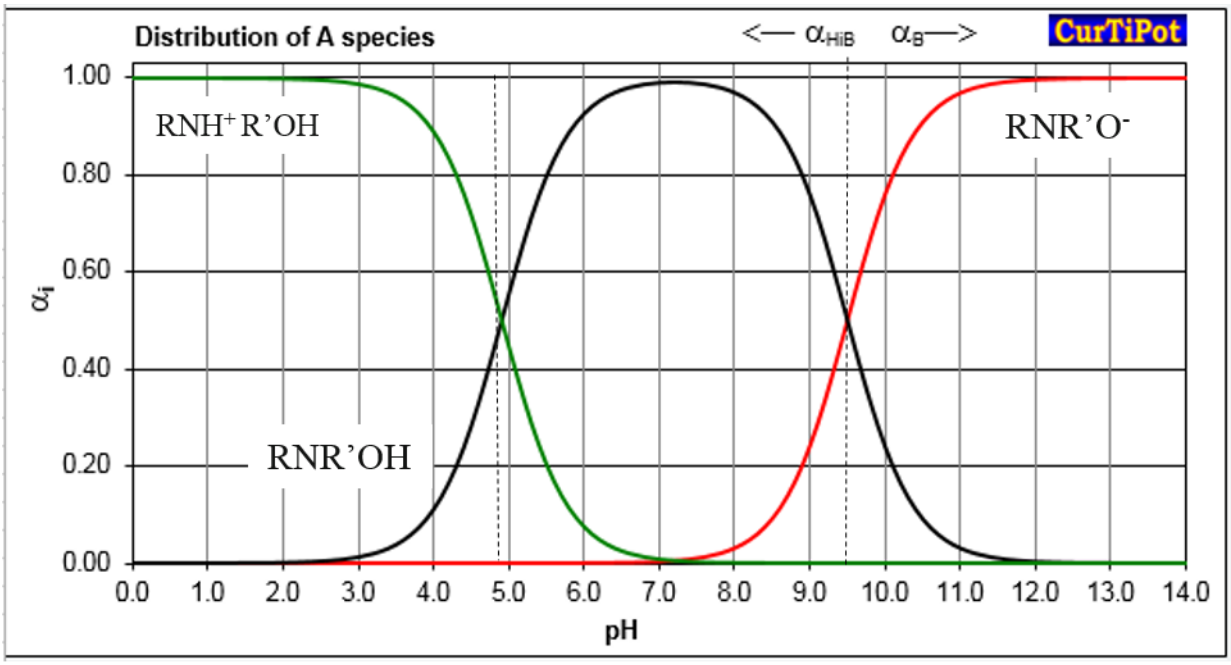
ELECTRONIC SUPPLEMENTARY MATERIAL



$RNH^{+}R'OH \Leftrightarrow RNR'OH \Leftrightarrow RNR'NO^{-}$

α values for different pH values for compound Q (Curtipot software www.iq.usp.br/gutz/Curtipot.html). RNH^{+} R'OH is 8-hydroxyquinoline protonated at the nitrogen; RNR'OH is the neutral molecule and $RNR'O^{-}$ is 8-hydroxyquinoline deprotonated at the OH group.

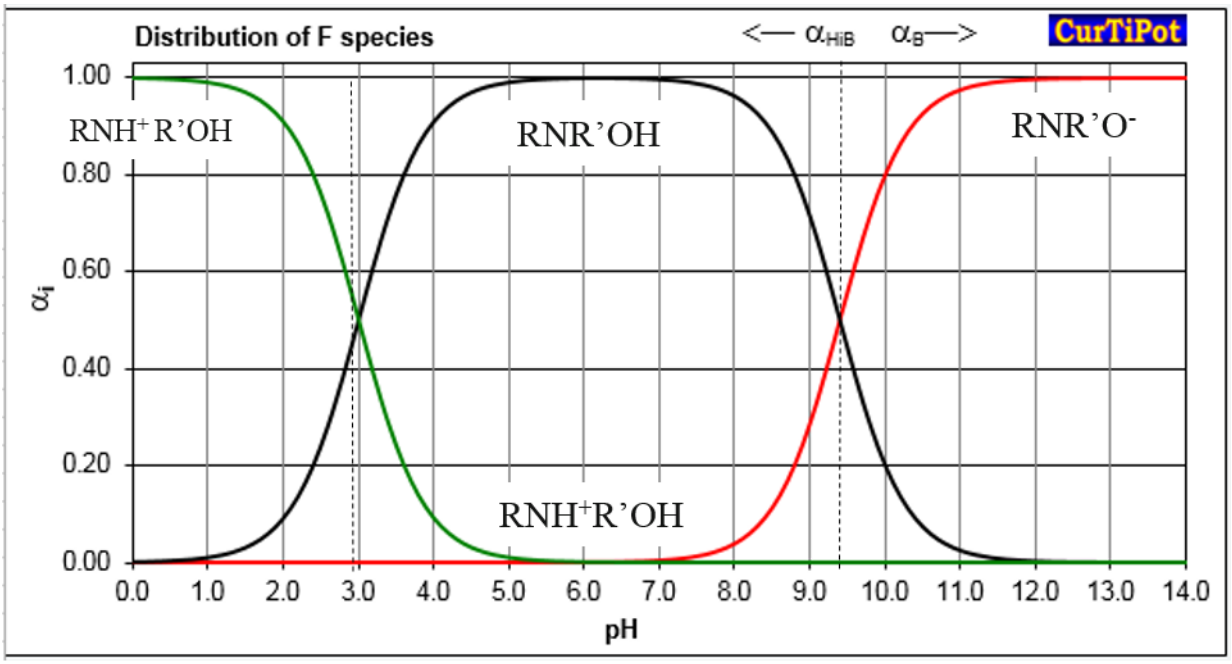
© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil



$RNH^{+}R'OH \Leftrightarrow RNR'OH \Leftrightarrow RNR'NO^{-}$

α values for different pH values for compound A (Curtipot software www.iq.usp.br/gutz/Curtipot.html). RNH^{+} R'OH is 5-acetyl-8-hydroxyquinoline protonated at the nitrogen; RNR'OH is the neutral molecule and $RNR'O^{-}$ is 5-acetyl-8-hydroxyquinoline deprotonated at the OH group.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil



$RNH^+R'OH \Leftrightarrow RNR'OH \Leftrightarrow RNR'NO^-$

α values for different pH values for compound F (Curtipot software www.iq.usp.br/gutz/Curtipot.html). RNH^+ R'OH is 5-formyl-8-hydroxyquinoline protonated at the nitrogen; RNR'OH is the neutral molecule and $RNR'O^-$ is 5-formyl-8-hydroxyquinoline deprotonated at the OH group.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

SÍNTESE DE ZEÓLITA SODALITA PARA TRATAMENTO DE EFLUENTES TÊXTEIS

SYNTHESIS OF SODALITE ZEOLITE TO TREATMENT OF TEXTILE EFFLUENTS

KLUNK, Marcos Antonio[1*]; DASGUPTA, Sudipta[2]; NUNES, Bruno Vinicius Gomes[1]; WANDER, Paulo Roberto[1]

[1] Graduation Program in Mechanical Engineering, University of Vale do Rio dos Sinos (Unisinos), CEP 93020-190, São Leopoldo, RS, Brazil

[2] Department of Earth Sciences, IIT Bombay, India

** Autor correspondente*
e-mail: marcosak@edu.unisinos.br

Received 12 November 2018; received in revised form 17 December 2018; accepted 23 December 2018

RESUMO

As indústrias têxteis vêm causando impactos ambientais devido ao descarte inadequado de corantes em seus efluentes. Vários processos têm sido estudados para um tratamento eficiente na remoção de corantes de efluentes têxteis, entre eles a utilização de peneiras moleculares (zeólitas). O material zeolítico, em especial a sodalita, tem ganhado espaço por apresentar a capacidade de adsorver os metais e grupos funcionais cromóforos. Portanto, a zeólita sodalita apresenta características que despertaram a comunidade científica para o tratamento de efluentes têxteis. O objetivo deste trabalho foi sintetizar e avaliar o emprego da zeólita sodalita em quatro razões de Si/Al (1.0, 1.5, 2.0 e 2.5) e testar a capacidade de adsorção na presença de corante têxtil cristal violeta. Como resultado, as zeólitas sintetizadas apresentaram característica que lhe colocam no senário dos materiais adsorventes. Dentre as técnicas utilizadas para caracterização, temos o diâmetro de poro médio entre 1.65 e 2.07 nm. A difração de raio-x revelou fazes cristalinas como a zeólita sodalita (majoritariamente) com a presença de caulinita, mulita e quartzo. A capacidade de troca catiônica ficou entre 0.8871 - 1.017 meq/g, onde teve um aumento de 14.65% da amostra 2.5-SOD comparado a 1.0-SOD. O processo de adsorção do corante foi reduzido a aproximadamente 12% (44 mg/L). Deste modo, conclui-se que as zeólitas sodalite obtidas possuem potencial na efetiva remoção de corantes da indústria têxtil.

Palavras-chave: BET, Metacaulim, Adsorção, Difração de raios-X, Capacidade de Troca Catiônica.

ABSTRACT

Textile dye industry causes environmental impacts due to inappropriate disposal of effluents. Several processes have been studied to effective treatment in the dye removal, one of the main molecular sieves (zeolites). The zeolite material, especially sodalite, has the ability to adsorb the metals and functional chromophore groups. Therefore, the sodalite has characteristics that have attention to the scientific community for the treatment of textile effluents. The aim of this work was to synthesize and evaluate the use of sodalite zeolite in four Si/Al ratios (1.0, 1.5, 2.0 and 2.5) and to test the adsorption capacity in the presence of violet crystal textile dye. As result, the synthesized zeolites presented a characteristic that places them in the adsorbent materials. Among the techniques used for characterization, we have the mean pore diameter between 1.65 and 2.07 nm. X-ray diffraction revealed crystalline phases as sodalite zeolite with the presence of kaolinite, mullite, and quartz. Cation-exchange-capacity was between 0.8871 to 1.017 meq/g, where it had a 14.65% increase of the 2.5-SOD sample. The dye adsorption process was reduced to 12% (44 mg/L). Thus, it has concluded that the obtained sodalite zeolites have potential in the effective removal of dyes from the textile industry.

Keywords: BET, Metakaolin, Adsorption, X-Ray Diffraction, Cation-Exchange Capacities.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUCTION

Water pollution is becoming a very worrying phenomenon. The textile industries contribute to water deterioration due to the discharge of large volumes of effluents into the environment, these effluents being considered as one of the most polluting among all industrial sectors (Savin and Butbnaru, 2008; Soupilas *et al.,* 2008). These effluents are complex mixtures of toxic pollutants, usually very concentrated, composed of dyes and pigments, salts, heavy metals, biocides, surfactants, and other organic and inorganic components. (Allegre *et al.,* 2006; Alinsafi, *et al.,* 2006; Eremektar *et al.,* 2007, Sharma *et al.,* 2007). Thus, textile effluents can lead to serious environmental consequences, especially for aquatic environments, if not treated properly. Traditional treatment methods such as chemical precipitation and membrane separation are ineffective and costly when used for dye removal (Balci *et al.,* 2011). Among the various types of effluent treatment, adsorption using zeolitic materials (molecular sieves) has been successfully employed in effective dye removal (Cejka *et al.,* 2007; Kunz *et al.,* 2002). In this work, the main focus is the synthesis of sodalite (SOD) as zeolitic material capable of adsorbing the textile dyes (Smith *et al.,* 2008). For the synthesis of the zeolitic material, four Si/Al ratios (SAR) (1.0, 1.5, 2.0 and 2.5), where metakaolin was used as an aluminum source (Smith, 2000). The metakaolin ($Al_2O_3.2SiO_2$) is related to the passage of the hydrated state of kaolin ($Al_2O_3.2SiO_2.2H_2O$) to the dehydrate, through the dehydroxylation of the kaolinite molecule ($Al_2Si_2O_5(OH)_4$) caused by heating during a certain time (Toledo *et al.,* 2003; Gardolinski, 2002).

Zeolites are hydrated aluminosilicates of alkaline and alkaline earth metals (Na, K, Mg and Ca), structured in three-dimensional crystalline networks composed of SiO_4 and AlO_4 type tetrahedra at the vertices by means of oxygen atoms (Breck, 1984). This material has a negative structural charge resulting from the isomorphic substitution of Si^{4+} cations by Al^{3+} in the crystalline structure, which is balanced by the positive charges of exchangeable cations. The sodalite zeolite ($Na_8Al_6Si_6O_{24}Cl_2$) is the closest packing of the sodalite cage, which in turn is truncated octahedron also known as the Kelvin cell. Its structural network is based on the "fusion" of subunits known as β-cage, which form interconnected chains and channels, where the inputs and outputs are controlled by rings formed from six tetrahedral members with aperture kinetic diameter 2.65 Å (Bibb and Dale, 1985). The synthesis of sodalite can be accomplished in several ways: by condensation reactions at low temperatures in a basic solution; high temperatures; sintering in the solid state; and transformation of the structure. The proper synthetic route is usually determined by the stability of the anion present in the cavity in relation to temperature and the raw material (Ding *et al.,* 2010).

MATERIALS AND METHODS

Synthesis of sodalite from metakaolin

The synthesis of sodalite was developed according to the research of Henmi (1987). The starting point was the use of metakaolin as a precursor and source of aluminum (Paz *et al.,* 2010). Sodium hydroxide solution was prepared by dissolving 80g NaOH in 1 L of distilled water and then the solution was partitioned into two parts, with the same volume of 500 ml. The first part was used to prepare the aluminum solution, by dissolving the metakaolin ($Al_2O_3.2SiO_2$) according to Table 1, in order to obtain the zeolites in different SAR. The second part was used to dissolve the silica gel (MERCK™). The two solutions were then mixed thoroughly using a blender and then left at room temperature to allow the transformation of the mixture from sol into a gel. The gel was then oven-dried at 90°C for 24 hours. Dry solid was ground to powder and then calcined at 550°C for 6 hours. In this process, sodalite acts as an ionic adsorbent agent capable of removing toxic heavy metal cations and ions from textile industry effluents.

Table 1. *Molar ratios used in the synthesis of sodalite*

Si/Al ratio	Metakaolin (grams)
1.0	0.5745
1.5	1.0081
2.0	1.5211
2.5	2.0474

Characterization of materials

The specific surface area and diameter were measured using Brunauer-Emmett-Teller (BET) Analyzer, Model BEL SORP mini II. The mineral composition of synthetic zeolites was determined via powder XRD using a Philips X'pert APD

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

diffractometer withPW3020 goniometer, Cu lamp, and graphite monochromator from 5 to 50 ° 2θ. Diffraction data were processed by Philips X'Pert and ClayLab ver. 1.0 software. Mineral phases were identified based on the International Union Database Crystallography's Joint Committee on Powder Diffraction Standards (JCPDS) (Scapin, 2003; Atkins and Jones, 2001; Buhrke *et al.,* 1998). The cation-exchange capacities (CEC) is a method that consists of the saturation of the material with a solution of sodium acetate and subsequent displacement of these cations by treatment with an ammonium acetate solution (Aguiar *et al.,* 2002). The amount of Na^+ ion displaced by NH_4^+ was determined by the inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) technique (iCAP 6000 – Thermo Fischer Scientific). The amount of the sodium ion expressed in mg / L was converted into usual units of CEC (meq/g) (Corella, 1996).

In order to simulate dye contaminated effluent, was used as an aqueous solution of crystal violet (CV) (MERCK™) (Cooper, 1993). Dye concentration was determined by UV-visible spectrophotometry at wavelengths of 591 and 666 nm (Ultra-Fast Scan UV-1900 - SHIMADZU™). An amount of 100 mg of adsorbent (sodalite) was placed in contact with 25 ml of a solution of adsorbate (CV) at a concentration of 50 mg/L under constant stirring at 150 rpm for 24 hours (De Gisi *et al.,* 2016; Qu *et al.,* 2013). After the contact time, the suspensions were centrifuged for 30 minutes at 2000 rpm and an aliquot of the supernatant was extracted for determination of the final concentration of the dyes.

RESULTS AND DISCUSSIONS

Characterization of sodalite

The surface area (BET) ranges from 5.5 to 6.4 m^2/g (table 2).

Table 2. *Textural properties of SOD zeolites*

Zeolitic materials	BET surface area (m^2/g)	Pore volume (cm^3/g)	Pore diameter (nm)
1.0-SOD	5.5	0.101	1.65
1.5-SOD	5.8	0.109	1.89
2.0-SOD	6.1	0.117	1.99
2.5-SOD	6.4	0.122	2.07

Additionally, the pore volume was 0.101 to 0.122 cm^3/g. The 2.5-SOD zeolite was the one that obtained a greater specific area when compared to the others. The mean pore diameter of these zeolites is between 1.65 and 2.07 nm. The pore volume was identified in the range of micropore (pore diameters less than 2 nm). Were identified relationships between the specific surface area results, pore volume and pore diameter with the SAR used in the synthesis.

In order to identify the formation of the crystalline structure of MOR without an organic driver, they were submitted to XRD analysis. The obtained diffractograms are shown in Figure 1. In general, quartz cannot be dissolved during the hydrothermal process and remain in the zeolites. Aluminum being a structural element of zeolites, its quantity influences the formation of these materials. It is noteworthy that the identification of the phases in the zeolite samples from metakaolin using the mineralogical characterization by XRD technique served as a comparative analysis of the different SAR.

The cation-exchange capacities measured by ICP-OES after each zeolites synthesis is in Table 3. CEC values ranged from 0.8871 to 1.017 meq/g. There was a 14.65% increase in CEC for 2.5-SOD zeolite compared to 1.0-SOD in the zeolitization process.

This was due to the high specific area and higher SAR found in 2.5-SOD. The CEC values found for all SOD zeolites indicate that these materials have a high potential for use as ion exchangers. The 2.5-SOD zeolites are easier to exchange NH_4^+ than 1.0-SOD zeolites. High values of the specific area and SAR contribute to the formation of zeolites, as it implies a smaller amount of non-reactive phases during the synthesis.

Table 3. *CEC values for sodalite zeolites*

Zeolitic materials	CEC (meq/g)
1.0-SOD	0.8871
1.5-SOD	0.9410
2.0-SOD	1.0091
2.5-SOD	1.0177

Adsorption study of dye in sodalite

The adsorption process of the dye was investigated in aqueous medium. The result is Table 4 were the initial concentration of CV dye

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

(50 mg/L) was reduced to approximately 12% (44 mg/L). The most efficient zeolite for adsorption of the dye was 2.5-SOD.

In order to have a greater reproducibility of the results, it is necessary to use a larger quantity of sodalite, thus avoiding the supersaturation of the adsorbent material. After the adsorption tests, the SOD-CV system was discarded in a suitable place.

Table 4. *Adsorption of dye in sodalite zeolites*

Zeolitic materials	Initial Conc. (mg/L)	Final Conc. (mg/L)
Free-SOD*	50	50.00
1.0-SOD	50	48.91
1.5-SOD	50	46.82
2.0-SOD	50	45.01
2.5-SOD	50	44.08

*Free-SOD: dye absence zeolites

CONCLUSIONS

The synthesis of the zeolitic material was possible, resulting in a product with crystalline phases referring to sodalite. These zeolites presented an average pore diameter between 1.65 and 2.07 nm. The pore volume was identified in the range of micropore. The x-ray diffraction shows us crystalline phases of zeolite sodalite with the presence of kaolinite, mullite, and quartz. Exchangeable cations are 0.8871 to 1.017 meq/g. There was a 14.65% increase in CEC for 2.5-SOD zeolite compared to 1.0-SOD in the zeolitization process. The dye adsorption process was reduced to approximately 12% (44 mg/L). Thus, it is concluded that obtained sodalite zeolites have potential in the effective removal of dyes from the textile industry.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors acknowledge the Brazilian agencies CNPq (National Counsel of Technological and Scientific Development – Brasília, DF, Brazil), CAPES (Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel) for the research funding, and the generous assistance of all the people from the company who granted us access to their database and perception information.

REFERENCES

1. Savin, I.I., Butbnaru, R. Wastewater characteristics in textile finishing mills. Environ. Eng. Manage. J. **2008**, 7, 859–864.

2. Soupilas, A., Papadimitriou, C.A., Samaras, P., Gudulas, K., Petridis, D. Monitoring of industrial effluent ecotoxicity in the greater Thessaloniki area. Desalination. **2008**, 224, 261–270.

3. Allegre, C., Moulin, P., Maisseu, M., Chrabit, F. Treatment and reuse of reactive dyeing effluents. J. Membr. Sci. **2006**, 269, 15-34.

4. Alinsafi, A., da Motta, M., Lebonte, S., Pons, M.N., Benhammou, A. Effect of variability on the treatment of textile dyeing wastewater by activated sludge. Dyes Pig. **2006**, 9, 31–39.

5. Eremektar, G., Selcukb, H., Mericc, S. Investigation of the relation between COD fractions and the toxicity in a textile finishing industry wastewater: effect of pre-ozonation. Desalination. **2007**, 211, 314–320.

6. Sharma, K.P., Sharma, S., Singh, P.K., Kumar, S., Grover, R., Sharma, P.K. A comparative study on characterization of textile wastewaters (untreated and treated) toxicity by chemical and biological tests. Chemosphere. **2007**, 69, 48–54.

7. Balci, B., Keskinkan, O., Avci, M. Use of BDST and an ANN model for prediction of dye adsorption efficiency of Eucalyptus camaldulensis barks in fixed-bed syste. Expert Syst Appl. **2011**, 38, 949–956.

8. Cejka J., Avelino C., Herman V. B., Ferdi S. Introduction to zeolite science and Practice, 3.Ed. Elsevier, Amsterdam. **2007**.

9. Kunz, A., Peralta-Zamora, P., Moraes, S. G., Durán, N. Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. Quím. Nova. **2002**, 25, 78-82.

10. Smith, P., Wingate, C., Silva, L. Mobility of included soda in sodalite. In: Proceedings of the 8th International Alumina Quality Workshop, **2008**.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

11. Smith, J.V. Microporous and other Framework Materials with Zeolite-type Structures, Springer, New York, **2000**.

12. Toledo, S.P., Santos H.S., Santos P.S. Caracterização dos Argilominerais do Grupo da Caulinita em Alguns Caulins e “Ball Clays” de Santa Catarina. Cerâmica Industrial. **2003**, 8(4), 19-25.

13. Gardolinski, J.E., Martins Filho, H.P., Wypych, F. Comportamento térmico da caulinita hidrata. Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná, Curitiba. Química Nova. **2003**, 26, 1, 30-35.

14. Breck, D.W. Zeolite molecular sieves: structure, chemistry and use, John Wiley and Son, New York. **1984**, 771.

15. Bibby, D. M., Dale, M.P. Synthesis of silica-sodalite from non-aqueous systems. Nature. **1985**, 317, 157-158.

16. Ding L., Yang H., Rahimi P., Omotoso O., Friesen W., Fairbridge C., Shi Y., Siauw, Ng. Solid transformation of zeolite NaA to sodalite. Microporous and Mesoporous Materials. **2010**, 130, 303–308.

17. Henmi, T. Synthesis of hydroxy-sodalite (“zeolite”) from waste coal ash. Soil. Sci. Plant Nutri. **1987**, 33(3), 517-521.

18. Paz, S.P.A., Angélica, R.S., Neves, R.F. Síntese hidrotermal de sodalita básica a partir de um rejeito de caulim termicamente ativado. Química Nova. **2010**, 33, 579-583.

19. Scapin, M.A. Aplicação da difração e fluorescência de raios X (WDXRF): ensaios em argilominerais. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. São Paulo. **2003**.

20. Atkins, P., Jones, L. Princípios de Química – questionando a vida moderna e o meio ambiente. Porto Alegre: Bookman. **2001**.

21. Buhrke, V.E., Jenkins, R., Smith, D.K. Preparation of specimens for X-ray fluorescence and X-ray diffraction analysis. London: Wiley-VCH, **1998.**

22. Aguiar, M.R.M.P., Novaes, A. C., Guarino, A.W.S. Remoção de metais pesados de efluentes industriais por aluminossilicatos. Química Nova. **2002**, 6B, 25, 1145-1154.

23. Corella, C., Ion exchange equilibria in zeolite mineral, Miner. Deposita. **1996**, 31, 554-562.

24. Cooper, P., Removing colour from dyehouse wastewater – a critical review of technology available. J. Soc. Dyers Colour. **1993**, 109, 97-100.

25. De Gisi, S., Lofrano, G., Grassi, M., Notarnicola, M. Characteristics and adsorption capacities of low-cost sorbents for wastewater treatment: A review. Sustainable Materials and Technologies. **2016**, 9, 10-40.

26. Qu, X., Alvarez, P. J., and Li, Q. Applications of nanotechnology in water and wastewater treatment. Water. Res. **2013**, 47, 3931-3946.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

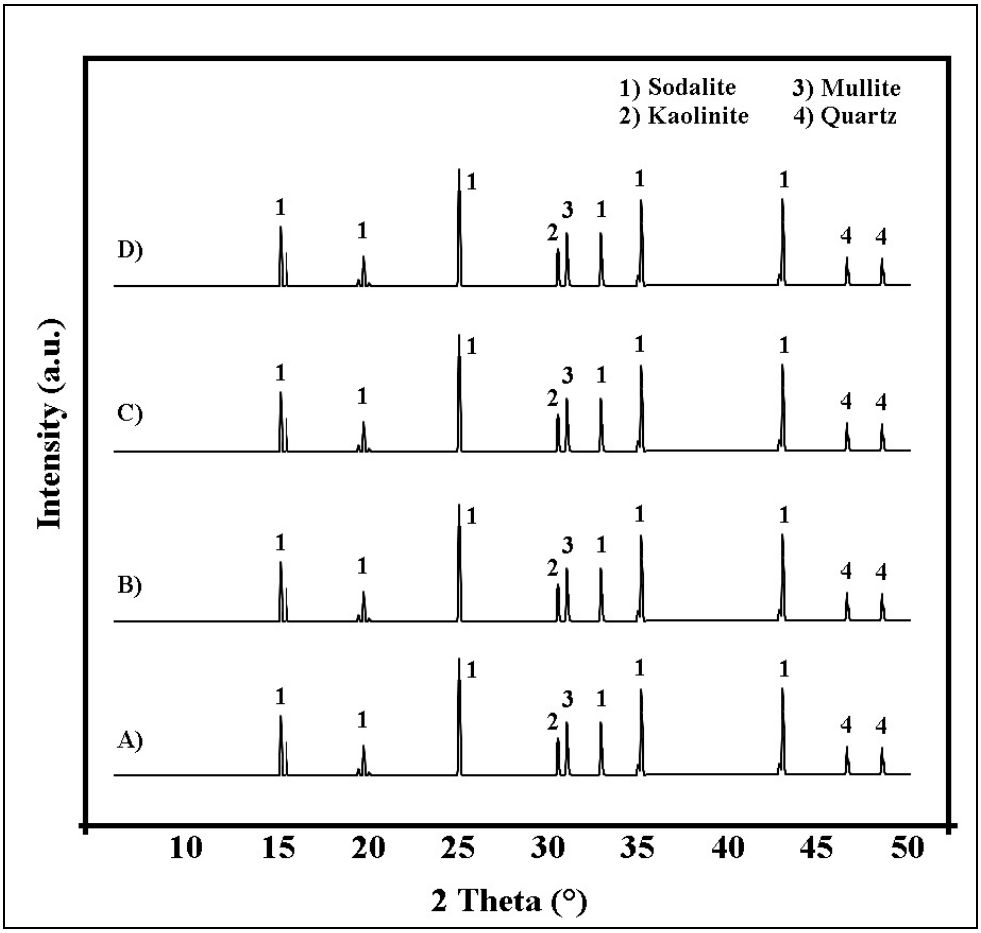


Figure 1: *Diffractograms of the sodalite zeolites with different SAR (a) 1.0; (b) 1.5; c) 2.0 and (d) 2.5.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

A HISTÓRIA DA QUÍMICA E O DESENVOLVIMENTO DE FARMÁCIA NA GEÓRGIA ANTIGA E MEDIEVAL

THE HISTORY OF CHEMISTRY AND PHARMACY DEVELOPMENT IN EARLY AND MEDIEVAL GEORGIA

ქიმიის და ფარმაციის განვითარების ისტორია ადრეულ და შუა საუკუნეების საქართველოში

KUPATADZE,Ketevan

Ilia State University, Georgia, Tbilisi
Kakutsa Cholokashvili Ave 3/5. Tbilisi 0162, Georgia

** Corresponding author*
e-mail: Ketevan_kupatadze@iliauni.edu.ge

Received 27 November 2018; received in revised form 27 December 2018; accepted 27 December 2018

RESUMO

Este artigo analisa o desenvolvimento da química e da farmácia no período inicial e medieval da Geórgia. Vamos nos concentrar apenas nas direções principais. A informação apresentada em si é importante do ponto de vista histórico; no entanto, acreditamos que ele desempenha um papel igualmente significativo no processo de ensino de química. Vincular diferentes questões químicas à história de sua descoberta ou do seu desenvolvimento desperta interesse e disposição adicionais nos alunos. Uma vez que o clima é criado, nunca desaparece e, no futuro, uma boa base é garantida para a aprendizagem abrangente do tema.

Palavras-chave: *História da Química; Química Didática; Química na Geórgia antiga e medieval*.

ABSTRACT

This article reviews chemistry and pharmacy development in the early and medieval period of Georgia. We will focus only on key directions. The presented information itself is important in historical point of view; however, we believe, that it plays an equally significant role in the chemistry teaching process as well. Linking different chemical issues to the history of its discovery or development kindles additional interest and disposition in students. Once the mood is created, it never fades away and in the future, a good basis is ensured for comprehensive learning of the topic.

Keywords: *History of chemistry; Chemistry Didactic; Chemistry in early and medieval Georgia;*

რეზიუმე

სტატიაში აღწერილია საქართველოში ადრეულ და შუა საუკუნეების პერიოდში ქიმიის და ფარმაციის განვითარების საქმე. ყურადღება გამახვილებულია მხოლოდ მნიშვნელოვან საკითხებზე. წარმოდგენილი მასალა ისტორიული კუთხით ძალიან მნიშვნელოვანია. თუმცა, იმედს ვიტოვებთ, რომ ის ქიმიის სწავლებისთვისაც მნიშვნელოვან როლს შეასრულებს. სხვადასხვა ელემენტების, ნივთიერებების აღმოჩენის, მიღების ისტორიის დაკავშირება თავად ამ ელემენტების და ნივთიერებების შესწავლის პროცესთან სტუდენტებში ინტერესს აღძრავს. ჩამოყალიბებული ინტერესი კი ქმნის სწავლის განწყობას, რომელიც მომავალში უკვე აღარ დაიკარგება.

საკვანძო სიტყვები: ქიმიის ისტორია; ქიმიის სწავლება; ქიმია ადრეულ და შუა საუკუნეების საქართველოში.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUCTION

In Georgian literature Chemistry was first mentioned in the 10th-century monument translated from Greek into Georgian by Ekvtime Mtatsmindeli, referring to the life of St. Bagrat. The book contains notions of metallurgy and chemistry. However, the 10th century, that was believed to be the date when the name "chemistry" first appeared in Georgian literature, should be considered conditional, as it might have as well been mentioned even before, but the source may have not survived to our times.

There are written sources claiming that Georgian tribes dwelling in Asia Minor had a well-developed practical knowledge of Chemistry. From these ancient tribes, Tabals, Saspers, Mushkis, Chalybes, Iberians were considered to be culturally more advanced, followed by Colchians and Lazi people, Mingrelian-Chani tribes and Svans on a later stage. Apollonius Rhodius writes [1]: "The Chalybes were not engaged in farming, fruit-growing or cattle-breeding. They would rather dig the gloomy iron-rich ground and exchanged the extracted iron-ore for grocery". S. Kaukhchishvili provides the data about Georgian tribes of the antique epoch and confirms that Georgian tribes: Kolkhi, Lazi, etc, dwelled closed to the Black Sea that time and were skilled in ore extraction.

The era of practical chemistry is related to stone extraction and processing. According to archaeological excavations, rock, brick, and tile were used as the construction materials in ancient Georgia. They had developed their own, original Iberian rule of tile production, that was especially advanced in I century B.C when Mtskheta was the capital of Iberia [1]. Most significantly, "The Book of Secrets" by Muhammad ibn Zakariya Al –Razi [2] reads about a variety of clay, differentiating between porcelain, horticultural, crucible, firm white clay, etc. The third volume of "Medicine Treatise" by Ibn Sina [3], names up to twenty different clays. That means that before these prominent representatives of Arabian alchemistry, clay and the rules of working with it were already well-known in Georgia.

In his book, Al –Razi mentions about enameling the surface of the ceramic vessel. In the period of practical chemistry, this technique was well practiced in Georgia and they knew that through this technique: a) enameling can prevent water leakage from clay vessels and b) enameling is desirable for dressing up clay items. To this end they used to apply quartz- SiO_2, feldspar -$K_2O{\cdot}Al_2O_3{\cdot}6SiO_2$, soda- $Na_2CO_3{\cdot}10H_2O$, potash- K_2CO_3, saltpeter- KNO_3, borax - $Na_2B_4O_7{\cdot}10H_2O$.

According to the selected material, glazing would consist of the following silicates: K_2SiO_3 (ie, $K_2O{\cdot}SiO_2$), $CaSiO_3$ (ie, $CaO{\cdot}SiO_2$), Na_2SiO_3 (ie, $Na_2O{\cdot}SiO_2$), $PbSiO_3$ (ie, $PbO{\cdot}SiO_2$), $Al_2(SiO_3)_3$ (ie, $Al_2O_3{\cdot}3SiO_2$). However, the chemical composition of silicates was unknown to them. The main thing was to ensure that the material was firmly attached to the wall of clay vessel and it was prevented from cracking.

The vessel found in Dmanisi excavations [4] is marked by two kinds of glazing: a) transparent glass-like, consisting of lead oxide - PbO, quartz - SiO_2, and red lead Pb_3O_4; b) colorful vitreous glazing, that in addition to lead and silicon oxides, contains copper (II) oxide-CuO, giving a green shade to the glass. For a light pink color, they used a "black stone", i.e. manganese (II) oxide - MnO_2. In this case, light pink is not obtained from manganese (II) oxide, but from the manganese silicate $Mn_2(SiO_3)_3$, generated as a result of chemical reactions.

$4MnO_2 \rightarrow 2Mn_2O_3+O_2$ ($500^{O}C$),
$Mn_2O_3+3SiO_2 \rightarrow Mn_2(SiO_3)_3$.

The copper was discovered in the Eneolithic period and they shifted from stone to metal workmanship. Copper was found in Tergi ravine, in Kakheti, in Alaverdi (places in Georgia). In the same era, the foundation was laid for metallurgy development (III-II millennium BC). Virgin copper processing should be considered as its beginning. Copper smelting from oxygen-containing ores is a relatively easier process compared to its extraction from sulfide ores. Therefore, it can be assumed, that for the first time, copper was derived from processing red ore (Cu_2O) or malachite $CuCO_3{\cdot}Cu(OH)_2$. Smelting-recovery was achieved by heating charcoal at high temperature. However, the question arises: how the people of that time could have thought of this method, being completely ignorant of chemical processes. There is a version, that they could have obtained this technique out of curiosity and based on their own observations. For instance, copper was covered with greenish substance. The substance of this color, specifically, emerald malachite $CuCO_3{\cdot}Cu\ (OH)_2$ and blue azurite $CuCO_3{\cdot}Cu\ (OH)_2$ were also possible to find in the nature. Comparing these

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

substances to the ores with similar color found in the nature could have led to the conclusion that the ores contain copper. The next step would be to get copper from the ore. They would be using fire, as it was the only source of energy. By the influence of fire, malachite or azurite would turn black. Of course, this black substance was a copper (II) oxide. People of those time could not have known that. However, the practice showed that it was possible to get copper from this black substance. Frist rust was generated from ores, out of which the metal was recovered by coal.

Giving the names to the existing metals is also very interesting. Iv. Javakhishvili [5,6] considers, that in addition to tin, Georgian tribes have created metal names themselves and they aren't borrowed from any foreign languages. For example:

1. **Gold** –in Megrelian dialect is pronounced almost the same as in a literary language –Okro-Orko; in Svanetian dialect: - Vkre; The name of gold can also be derived from Georgian word "inextinguishable" due to the fact, that the glittering of this metal never extinguishes, the surface of it never fades away.

2. **Silver** (vertskhli) – in Megrelian dialect is pronounced as varchkhli, in Svanetian – varchkhil.

3. **Copper** (spilendzi) – Georgian tribe - spinners, their ores – Spirendz-spilendz, in Svanetian – spilendz, in Megrelian – linj.

4. **Iron** (rkina), pronounced in Lazi language as –erkina, meaning the sky. In old times, they believed that the sky was made of iron.

5. **Lead** (tkvia) – pronounced as tkvivi, brpeni i.e. prpeni.

6. Only the name of **Tin** (pronounced as - kala) is originated from city Kalah, located on Malaka peninsula, from where they used to acquire tin ores. First, this metal was brought to Iran – Tavriz, cold Kali-Kala in ancient times and then from there - directly to Georgia.

7. **Brass** (titberi) –copper and zinc alloy– is derived from Megrelian - tuta-color. In Megrelian, tuta means the moon.

8. Especially interesting is the name of **Mercury** (vertskhlistkali). The name of this element was first introduced by doctor Dioskoride in the Ist century in his work on "Remedies", providing the data on natural, animal and inorganic agents, including mercury. In the Greek language, its name is derived from Greek words water and silver. Roman Plinius (23-79yy) attached Latin suffix to this name, thus creating its modern international name - Hydrargyrum. Its Georgian name is found in "Unparagoned Karabaddin" by Kananeli. "Mercury" had also been used earlier in the Georgian language. According to I. Abuladze's [5] dictionary, "Mercury" was first mentioned in the 10th century in the scripture by Grigol Noseli, with the following edition: "For the habit of the human body". The name of mercury –"Vertskhlis tskali (Silver water - translation)" proved to be pretty suitable and responding to external physical properties of this metal. Indeed, mercury is a liquid and therefore the name "tskali" – (water) is used. At the same time, "water" has a silver color, i.e. it is "silver water".

In the 1st millennium BC, the word "lime" (pronounced as "Kiri") appears in the Georgian language. It has been derived from Urartian language "Kira" i.e. Kiri, that means "soil". As the construction material, "lime" ("kiri") was introduced in Georgia in VIII-VII centuries BC. In his "Life of Kartli" Leonti Mroveli is writing the following: "Hitherto lime wasn't used in any construction work" [7,8]. After adding lime to the list of construction materials, it became possible to construct such architectural monuments that have survived centuries.

Lime reinforcement and consolidation is conditioned by four factors: 1. Drying, 2. Crystallization, 3 calcium carbonate formation from air interaction with carbon dioxide. 4 The interaction between lime and sand. The last two processes are more important but as they are carried out at a slow pace, lime gradually gets harder. In Georgian scientific literature, lime without water (oxide) is called "unextinguished", and lime with water content (hydroxide) is called extinguished. King Vakhtang VI (see the information below) used to call them as subsided and non-subsided [9].

According to archeologic excavations, glass production had also been developed in Georgia. Some sources attribute its emergence to IV-III centuries BC. Blue glass items found in Mtskheta local workshops must be of VI-V centuries [10]. It is also known that they used to melt cobalt and copper compounds to get colored glass. The archeological excavations prove that they were familiar with paint production techniques in the ancient and Middle Ages Georgia. Dmanisi masters would use yellow, orange color;

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

turquoise color, green, whitish paints in ceramics. Chalk -$CaCO_3$; barite-$BaSO_4$, kaolin-Al_2O_3•$2SiO_2$•$2H_2O$ were widely utilized as white paint. Colorless dyes were prepared by alloying crushed glass with lead oxide and white sand (silicium (II) oxide). The mixture of Iron hydroxide and iron oxide was used as yellow paint. Antimony sulfide was also applied for the same purpose. For getting green dyes, they mainly used malachite and mixed it with copper (II) oxide, chromium (III) oxide, aluminum (III) oxide, and magnesium (II) oxide. For getting red paint, they used iron (III) oxide, vermilion (cinnabar – in Georgian) HgS, in old times its suspension in water was frequently used as red ink.

The King Vakhtang's book "The Book on Mixing Oils and Making Chemistry" was written in 18 century and reached our times in a form of a manuscript containing 72 pages. The manuscript consists of 279 paragraphs; the text contains several draughts of chemical tools. It should be mentioned that under the term "oils" Vakhtang meant liquids of different ingredients. Thus the name of this book implies a chemical transformation through mixing different liquids.

According to D. Bregvadze, Vakhtang began to write his book in Isfahan and continued in Kerman and Russia. The book is written in the form of a practical textbook. It is not a simple translation. Along with data gathering, Vakhtang elaborated the rules of obtaining certain mixtures and elements based on his own observation and wide scientific knowledge [11].

By the way, in his book, King Vakhtang VI repeatedly writes about cinnabar, but only for the purpose of preparing a dye and never considering it as an elixir for gold transmutation.

Experiment #42 was called- "Making the Cinnabar". #48 describes the preparation of high-quality cinnabar. For this purpose, iron sulfate ($FeSO_4$) should be added to sulfur and mercury. Prepared cinnabar needs to be sublimated. Vakhtang talked about quantitative measurements and wrote – "*take two parts of sulfur and one part of mercury*".

#181describes even more complex method of cinnabar preparation, using the powder of sandalwood instead of sulfur, while Mercury has to be taken in double quantity. It should be underlined that cinnabar is the name of the native mineral. Red paint was produced from cinnabar, which was actively used for various purposes. Vakhtang had known this, as shown from his last two records; therefore, he was trying to get exactly cinnabar and not just salt. Nothing is mentioned about cinnabar's transformation into gold. Thus, Vakhtang used cinnabar as paint.

In N159 recipe, Vakhtang VI describes the process of preparing yellow ink: „There is a special type of a tree, one can find in riverside woods, its fruit is similar to an acorn. Smash it, soak it in lye, boil it, filter, then boil again and mix it with the pounded alum". Lye would probably be alkaline, and alum –aluminum sulphide. As for the acorn-like fruit, the king is probably referring to "Gall's Nuts", used for ink preparation during Arab alchemy period. These Nuts contained tannin acids. In 1862, Michael de Champoner and M. Malepayer published the following recipe in the "Dictionary of Chemistry": a string of Aleppo oak nuts (battered) – 8 ounce (226.796 grams); black sandalwood tree crust– 4 ounces; iron sulphate – 4 ounces, Acacia resin -gum Arabic – 3 ounces; copper sulphate – 1 ounce; Crystalline sugar-1 ounce. Put Gall's Nuts in 5-liter water and let it boil for an hour, or, until half of the water evaporates. Filter the received solution and add the remaining ingredients to the filtrate until getting viscous liquid. Leave it for 24 hours, place it in dark vessel, cover firmly and store.

Another recipe is as follows: "Pound 4 ounce (1 ounce =28.3495gr) of Allepo oak nuts (strings) in a porcelain mortar, add one ounce of the crushed crust of the same tree and pour 3 pints (1 pint -1.41953 l.) of soft water. Boil it on a low temperature until it becomes half. Then, add 2 ounces of iron sulphate, ½ ounce of blue vitriol or copper carbonate (the latter is better), 2 ounces of Acacia resin -gum Arabic and 2 ounces of brown sugar. Shake well and leave it for a week. Then filter and add a small amount of alcohol, the ink is ready.

Chemistry in Georgia was not only used for household needs, but it also facilitated the future pharmacy and medicine development. Medical handbooks having survived to our times indicate the abovementioned. The term – Karabaddin – Akrabaddin – the medical book is originated from Arabic "Aqrabadin" that means a little book, booklet [12]. "Unparagoned Karabaddin" ("unparagoned" - matchless, the most correct) is a remarkable monument of XI century. It's influenced by Arabic and Persian medicine, however, one can also find there examples of Georgian public medicine. The author also describes his own observations [13]. According to

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

“Karabaddin”, from the four elements of Greek people, blood in the human body corresponds to water, grief corresponds to the soil, gall (stomach juice) – to fire, vomited bile –to air. When the balance among them is breached, or any of them becomes useless, then the disease emerges. The author builds his methods upon the principle of contradiction. He directs the cool against the warm; the warm is used against the cool; dry is directed against the moist; moist is used against dry.

The former Hodja agrees with the above mentioned in Karabaddin and provides a number of folk methods and medicines nowadays still used in folk medicine. In his “Medical Book” Zaza Panaskerteli-Tsitsishvili builds all treatment methods upon the doctrine of four elements. However, along with Iranian-Arabic influence, the influence of Christian religion can also be perceived. Another significant medical book is “Iadigar Daudia”, written by David Bagrationi (King of Georgia) when being in Istanbul in 1569-1578. The author shares the idea of four elements – water, soil, air, and fire. Georgian medical handbooks frequently mention different units of weight used in eastern countries. 1. Zolotnik-4,25gr. 2. Ounce--30,0gr; 3. Carat-0,33gr; Farthing-1,0495gr; 4.Bowl – a modern teacup;

One can find medicine names in “Iadigar Daud” that differ from Georgian modern names; “Kveraki” – a pill, “Ghati”- gastrointestinal medicine; “Guarishni”–remedy for digestion, Iariji/plaster – ointment; “Sikangubin”- cure for liver; “Sharbati” - syrup; “Mughlab”-fluid medicine; “Tle” – compression; Wine is referred to as one of the cures and very often it represents a component for drug preparation.

Vakhtang the VI speaks about “Oils” in his book [14,15]. The notion “oil” is not used with its modern sense. The “oils” described in the book should probably be referred to as ointments. The king used sulfur for preparing most of the “oils”. Sometimes he used to mix soap water with them. In some cases, the king would also add lime or mercury salt to it (mercurial – i.e. a salt of mercury). Vakhtang the VI writes the following about such “oils”: “There is nothing better for pimple treatment than the “oil”; Sometimes he advises to prepare “oil” from sulfur, ammonium chloride, and ash. In all the cases, where oil was made of sulfur with soap water, unsubsided lime or ash, mainly the chemical reaction was represented by sulfur and alkaline interaction, as a result of which sodium - or calcium sulphide or polysulfide was formed. Such materials were even used in more advanced medicine for skin disease treatment, such as mange.

$$6NaOH+3S\rightarrow 2Na_2S+Na_2SO_3+3H_2O$$

$$3Ca(OH)_2+3S\rightarrow 2CaS+CaSO_3+3H_2O$$

Sodium or calcium sulphides open the skin epidermis and destroy the parasites.

CHEMISTRY AND PHARMACY HISTORY IN THE SERVICE OF CHEMISTRY DIDACTICS.

In the introduction of the article, we wrote about creating a mood. As a rule, Chemistry seems difficult for school students and therefore teachers have to constantly take care of creating and keeping that mood. There are a variety of methods for creating the mood [16,17] and one of them is the technique of relating a specific topic to the history of Chemistry. If we manage to back up the historical background with chemical experiments, then students will most probably take an interest in chemistry. For instance, when studying the topic on “salts”, “acids” or “metals”, it should be exciting for the students to prepare ink with an old technique.

After the historical background, ink can easily be made by mixing tannin acid with iron sulphate. It would be an easy preparation of ink and the students will be able to write different words or even formulas on paper immediately after it gets slightly condensed. When studying the topic on “metals” we can link the colors of their ions to the color of paints, for instance: lead oxide was used in making a yellow pigment. In order to prove the yellow coloring of lead ion, an experiment can be conducted with potassium iodide and lead acetate. The latter was called “lead sugar” by the follower of Egyptian alchemist -

Zosimos of Panopolis, believing that salt had a sweet taste like sugar [18]. It will be useful if we provide students with information on lead harmfulness. Lead is a heavy metal and it can cause harm to the organism, as it can be accumulated in the body at the protein level. When studying the topic “Salts”, we can decompose the malachite. In this way, we will overlap the topic “oxides”, like water, carbon dioxide and copper (II) oxide are formed. The same experiment can be used for studying “the types of chemical reactions” in particular,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

"Decomposition Reaction". Mineral malachite is a complex copper salt and as shown from the upper part of the article, it was used for many purposes. Similarly, the historical material can be found for other minerals as well, for instance, on Lazurit, the same as Lapi Lazuliz [19,20], containing calcium, aluminum, silisium. When characterizing calcium oxide and hydroxide, we can remind the students about lime and the history of its use. When studying the topic of "indicators" ("acids", "hydroxides") a nice experiment called "chemical flower" can be conducted, where different indicators are placed in a Petri dish filled with isopropyl alcohol, next to which we put a small piece of sodium and watch the process of discoloration and ultimately make relevant conclusions. The indicator was discovered by Robert Boil, records about him can be found in the book by Vakhtang the VI. Such historical stories can be provided for any topic, making the lesson of chemistry much more interesting and multifarious.

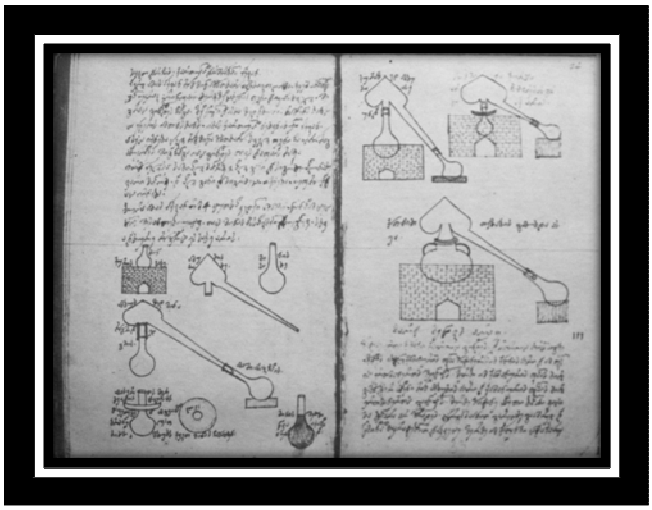


Figure 1. *The book of Vakhtang the VI*

CONCLUSIONS:

Thus, Chemistry has been developed in Georgia since ancient times. It was mainly used in craftsmanship and for household needs, though they didn't understand the chemical essence of the process of course. Everything was based on observation and experience. The book by Vakhtang VI is the most significant chemical thesis, where he almost perfectly describes various chemical experiments for that time. From the records, it becomes clear that the king himself conducts the experiments in the lab and in case of failure of any experiment, he honestly admits: "I've done these and didn't get anything out of them".

The pharmacy was also well advanced in medieval period Georgia, as proved by archeological excavations and chemistry books have survived to our times. The list of Karabaddin (medical books) clearly shows that their authors were familiar with the records of Arab alchemists-physicians and not only agreed with them but even expanded their prescriptions based on own observations.

For instance, when talking about treatment of joints in his medical book, the former Hodja agrees with Al-raz, that treatment with natural remedies is always better. In addition to various prescriptions, he also speaks about maize bran, as it prevents the spread of inflammatory processes. Indeed, bran (especially maize) contains rough fibers, that are not digested in the human body, they absorb inflammatory bacteria in intestines and do not allow them to spread. Joint pain is caused by inflammatory processes and age changes. Al-Razi didn't speak about bran, but instead, in case of joint paint, he would advise paying attention to the parasites spread in the abdominal cavity. Such details indicate that in Georgia they made use of already existing knowledge and developed a new one based on their own observations.

REFERENCES:

1. Khaukhchisvili, S., What are saying the ancient Greeks about Georgia?, Metsniereba. Tbilisi. **1964.**
2. Greenberg, A., From Alchemy to Chemistry. John Wiley &Sons.NH, **2007.**
3. Djafaridze, O. Archaeological excavations in Georgia. University Press. Tbilisi. **1970.**
4. Javakhishvili, I., The History of Georgian Nations. Tbilisi National Academy. Tbilisi. **2012**.
5. Abuladze, I., The Dictionary of ancient Georgian language, Metsniereba., Tbilisi. **1973.**
6. Javakhishvili, I., The History of Georgian Nations. National Academy., Tbilisi. **2012**.
7. Aphakidze, A., The construction of ceramics in the ancient period of Kartli Kingdom The Works of Iv. Javakhishvili Institute of History, V. **2004.**
8. Mroveli, L., Life of Kartli, Metsniereba. Tbilisi. **1955.**

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

9. Vakhtang VI, The Book of mixing oils and making chemistry. Printing house of Tbilisi University. Tbilisi. **1991.**
10. Ugrelidze, N., Glass in ancient Georgia, Printing house of Tbilisi University. Tbilisi. **1961.**
11. Bregvadze, D., Vakhtang VI in Iran. The work of Kutaisi State Pedagogical University, V. XXVI. #10. **1963.**
12. Atchariani, P., The Dictionary of Armenian Etimology, Metsniereba. Tbilisi. **1996.**
13. Former Hodja, The Book of Medisine. Samshoblo. Tbilisi. **1936.**
14. Kupatadze, K., Malazonia, D., The Overview of Chemical knowledge in Eighteent Century Georgia according to the Chemistry Book by King Vakhtang VI. Orbital: The Electronic Journal of Chemistry, Vol.8. #3. **2016.**
15. Menabde, L., Vakhtang VI (Life and Work). Printing house of Tbilisi University. **2011**.
16. Uznadze, D.,Mood Theory, Metsniereba. Tbilisi. **1967.**
17. Kupatadze, K., Histrory of Chemistry and Scientific Tourizm as a Means to Increase Students Motivation to Learn Chemistry. Journal Tche Quimica, #22. **2014.**
18. Azimov, A., History of Chemistry. Press “Мир”. Moscow. **1983**.
19. Karimov, U., The unknown work of Al-Rāzī „The great book of mystery“. Tashkent, **1957**.
20. Ferrario, G., Maimonides’ Book on Poisons and the Protection Against Lethat Drugs. Cambridge Univrsitu Press. **2014.**

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

SOBRE A ADOÇÃO DA TECNOLOGIA BIM NO PROCESSO EDUCACIONAL DO ENSINO DA ENGENHARIA CIVIL

ON THE ADOPTION OF BIM-TECHNOLOGY IN THE EDUCATIONAL PROCESS OF TEACHING CIVIL ENGINEERS

О ПРИНЯТИИ ТИМ-ТЕХНОЛОГИИ В ОБРАЗОВАТЕЛЬНОМ ПРОЦЕССЕ ОБУЧЕНИЯ ИНЖЕНЕРОВ-СТРОИТЕЛЕЙ

TARKHANOVA, Olga V.[1*]; KUSHAKOVA, Nelli P.[2]

[1,2] Tyumen Industrial University, Construction Institute, Department of Automobile Transport, Construction and Road Machinery, 38 Volodarskiy Str., zip code 625000, Tyumen – Russian Federation
(phone: +73452283660)

** Corresponding author*
e-mail: olgawtarkhanova@gmail.com

Received 12 November 2018; received in revised form 02 December 2018; accepted 28 December 2018

RESUMO

O artigo descreve o problema de melhorar o sistema de ensino de futuros engenheiros civis, em conexão com o desenvolvimento estratégico da indústria da construção. Formulários existentes, métodos de ensino de graduados de uma universidade de construção são estudados. A essência da modelagem de informações Tecnologias de Modelagem da Informação da Construção (BIM - *Building Information Model*) são analisadas. As correspondências entre os conhecimentos, competências e habilidades adquiridas pelos alunos no curso de estudo das disciplinas da área 08.03.01. Construção e funções dos especialistas que participam da projeto-BIM são revelados. O algoritmo de adoção de modelagem de informações de tecnologias BIM no processo educacional de futuros engenheiros civis é proposto com o objetivo de melhorar a qualificação de especialistas que são proficientes em tecnologias modernas do projeto de operações de construção.

Palavras-chave: *Tecnologias-BIM, produção de construção, processo educacional, formação de engenheiros civis, ciclo de vida de um projeto de construção.*

ABSTRACT

The article outlines the problem of improving the system of teaching future civil engineers, in connection with the strategic development of the construction industry. Existing forms, methods of teaching graduates of a construction university are studied. The essence of information modeling Buildings Information Modeling (BIM) technologies – is analyzed. The correspondences between the knowledge, skills, and abilities acquired by the students in the course of study of the disciplines of the area 08.03.01. Construction and roles of specialists participating in the BIM-projecting are revealed. The algorithm of adoption of information modeling of BIM-technologies into the educational process of future civil engineers is proposed with the purpose of improving the qualification of specialists who are proficient in modern technologies of the design of construction operations.

Keywords: *BIM-technologies, construction production, educational process, training of civil engineers, life cycle of a construction project.*

АННОТАЦИЯ

В статье излагается проблема совершенствования системы обучения будущих инженеров-строителей в связи со стратегическим развитием строительной отрасли. Изучаются существующие формы, методы обучения выпускников строительного вуза. Анализируется сущность информационного моделирования зданий и технологий информационного моделирования (ТИМ). Установлены

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

соответствия между знаниями, умениями и навыками, приобретенными студентами в ходе изучения дисциплин области 08.03.01 Строительство и роль специалистов, участвующих в ТИМ-проектировании. Предложен алгоритм внедрения информационного моделирования ТИМ-технологий в учебный процесс будущих инженеров-строителей с целью повышения квалификации специалистов, владеющих современными технологиями проектирования строительных работ.

Ключевые слова: *ТИМ-технология, строительное производство, учебный процесс, подготовка инженеров-строителей, жизненный цикл строительного проекта.*

INTRODUCTION

Building information modelling (BIM) has been changing the practice in the architecture, engineering and construction (AEC) industry. Uptake of BIM radically changes the workflow of a construction project, changes communication among different professions, and creates new job opportunities. Many Universities providing AEC courses are facing the challenge to incorporate BIM into the curricula so that their graduates are BIM-ready. It seems that there has not been any consensus on how BIM should be embraced into AEC education. Many universities are still experimenting and finding their way. Some have developed standalone BIM subjects whereas some have diffused BIM elements into the existing curricula. Some introduced BIM in the first year to lay the foundation whereas some put BIM as capstone subjects when student have acquired sufficient background knowledge.

BIM education has started early in the United States (US) and its development in the US is relatively more mature than that of Australia. However, according to Camarinha, BIM in the US generally has a rather narrow focus on visualization and clash detection and BIM education in the US implements a few of 40 functional areas of BIM identified by BuildingSmart International. Recently, the Academic Interoperability Coalition (AIC) called for a consensus about BIM education and aims to define a basis for curriculum development. This reflects that BIM education development still has a long way to go. Research on BIM education is somewhat limited. Many aspects of BIM education are still awaiting further investigation (Camarinha, 2016).

In 2015, the National Association of Surveyors and Designers (NOPRIZ) presents the strategy of innovative development of the construction industry until 2030. During the development of this document, attention is focused on the block devoted to innovative methods of development, including information modeling – BIM-technologies (NOPRIZ…). In the same year, 2015, at the highest architectural and construction educational institutions of the Russian Federation, the first bachelors' students graduated who entered in 2011. At the same time, the system of sectoral education did not adequately provide the necessary level of unity of competence requirements (qualification) and the quality of graduate's training, and the construction industry was not ready for a mass adequate inclusion of graduates – bachelors in the production process (Project…, 2015).

The Ministry of Construction and Housing and Communal Services of the Russian Federation has embarked on a plan for the phased introduction of BIM-technologies in the field of industrial and civil construction (Ministry of Construction…, 2015). As a result, the demand for graduates of construction specialties, capable of using BIM-technologies in the field of construction, has increased. Professor V.V. Talapov notes: "with the training of information modeling in our universities almost nothing has changed, we simply do not prepare such specialists. Although some centers of BIM implementation in the masses still exist and even develop" (Talapov, 2014; Krivonogov *et al.*, 2018; Dainty *et al.*, 2015).

The problem is:

– On the one hand, the graduates turned out not to be adapted to the needs of the construction industry aimed at strategic development, their qualifications do not meet the requirements of employers;

– On the other hand, educational programs under the conditions of transition to the Bologna education system were often in the modernizing stage of compliance with modern technologies and lack of relevant knowledge among teachers in the field of new technologies.

In addition, V.V. Talapov notes: "The main problem of the construction universities of our

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

country is that the system of training specialists in them has developed in the 1930s and has not changed seriously since then. This system is based on the individual work of each student within his or her major. No collective work or joint work with adjacent sections is supposed at all, everyone gets used to working for himself and is not interested in what others are doing on the same project. Even when a complex thesis work is carried out, which has, for example, two authors, the rules require a clear boundary between what one of them did and what the other did.

At the same time, BIM is a collective technology, based on a single model and involving close interaction of specialists in all areas of design, construction, and operation of a building. So the existing university approach needs to be fundamentally changed, otherwise, we will continue to stumble on the issue of training personnel knowing BIM" (Talapov, 2014).

SUBJECTS AND METHODS

In this regard, the higher school faces the task of developing and introducing into the educational process the means, methods, and technologies aimed at the quality of training of the future civil engineer capable of carrying out the innovative development of the construction industry. The actual goal is the improvement of educational processes so that the graduate of a construction university professionally possessed not only the most modern tools but also design technologies (Kassemm *et al.*, 2015; Pärn *et al.*, 2017; Scott, 2015).

Buildings information modeling (BIM) is the process of collective creation and use of information about a structure that forms the basis for all decisions during the life cycle of a construction project (from the planning stage to design, production documentation, design, construction, operation, and demolition). BIM is not a specific computer program. This is a new design technology. Hence, it is logical to understand BIM as a methodology. When teaching the BIM-methodology, it is necessary to clearly separate teaching to BIM tools and how to rebuild educational processes in connection with the implementation of the BIM-methodology of design. The majority of participants are engaged in teaching BIM-tools, and very few people are engaged in teaching BIM-methodology, changing design processes. Without this, it is impossible to actually implement BIM (Reuter, 2016; Shelbourn *et al.*, 2016).

BIM is a defined principle of the work of specialized professionals at all stages of the life cycle of construction projects – adjacent designers: architects, constructors, specialists in engineering networks, specialists in working documentation (estimates, logisticians and others), etc. According to BIM, they all work in a single related model.

The analysis of working curriculums for the area 08.03.01 Construction, various majors, allows one to designate that in the process of studying various disciplines that are part of the educational program of civil engineers, students pass all roles of designers, at all stages of the life cycle of the building. Table 1 gives an analysis of the working curriculum of the area Construction, the major "Industrial and civil construction", which shows the development of the roles of designers of the life cycle of buildings, in the process of training future civil engineers in specific subjects of the educational program.

The analysis shows that the set of roles of the designers of the life cycle of buildings from subject to subject increases with the growth of the academic year. For the disciplines of senior students is characteristic that in one subject students can (should) be in the role of each of the designers of the life cycle of a construction object. Understanding the essence of BIM-modeling and its use in educational process, it is natural, from the first years, to offer students a project of building structures with a set of drawings, presentation videos and graphic materials, and to implement a complex design of the building with increasing complexity each term up to final qualifying work. This will allow a student to create and upgrade his project throughout the training period, to accumulate and expand it in the process of performing laboratory, computational, graphical, coursework, creative and other works with possible achieving of a new, better level of the thesis design. This approach allows not to perform chaotic, dot works, but to see its activity as an integrated, systemic, aimed at forming competencies for creating and working on global professionally oriented projects during the education process.

To successfully implement the described approach, fundamental changes in the educational process should take place, taking into account the essence of BIM technology. The difficulty here is that at the moment there are

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

recommendations on the introduction of BIM technologies in construction companies, production (Basic principles…; Talapov, 2016; Implementation of BIM…; Pismerov, 2012), but for the introduction of the designated design technology in the educational process of training future civil engineers, the material is not sufficient.

RESULTS:

The authors propose an algorithm for organizing the activity on the introduction of BIM technology into the educational process for teaching future civil engineers (Figure 1), which contains the following blocks.

Block 1 – Preparatory. or effective reorganization of education in an educational institution when BIM is implemented strategically, it is necessary to determine what changes the educational organization currently needs, at what organizational level of education the changes will be introduced, and what most important consequences are expected, and also to develop a further planned strategy.

The process of strategic planning of changes, first of all, should be aimed at identifying the critical needs of the educational institution and the designated goals. In addition to assessing the technical and financial aspects of the planned changes, it is necessary to assess the extent to which the teaching staff is ready to accept changes; whether the educational institution has the potential, for example, human resources (faculty, cooperation with construction companies, specialists in computer centers, etc.), who have the necessary qualifications to carry out projects on changes; and what technologies will be required for this. This block identifies the strategies and objectives, the development of a plan for their implementation; definition of the criteria for meeting the goals; evaluation according to the criteria for meeting the goals; development of corrective actions for improvement.

Block 2 – Formation of the pilot BIM group and its activities. A working group is being formed – a pilot BIM group that develops a program of management and correction of teaching in disciplines. In the process of BIM design, specialists/teachers of various specializations take part in the production/educational process, in accordance with all stages of the life cycle of buildings. The pilot BIM group should include teachers of principal subjects, where knowledge, skills, and abilities are formed in each of the stages of the life cycle of buildings, as well as representatives of interested enterprises. This will allow establishing interdisciplinary communication, which is important for the BIM-design, where one has to think a few steps ahead. In particular, when working with parts of the model, we must clearly imagine how this will later be combined into a single whole.

Block 3 – Phased implementation of BIM. It provides three stages of implementing BIM-technology directly into the educational process:

The 1st stage is held within the framework of separate disciplines. The 2nd stage begins in the framework of interdisciplinary integration. The 3rd stage takes place within the whole educational process, in the conditions of well-developed implementation processes with clearly defined input data, procedures, roles of the people involved and the results of each step.

Thus, BIM technologies can be used in the educational process from the point (local) stage to the end-to-end (global) design throughout the entire educational process. All activities are regulated by regulatory documents, didactic and methodological materials.

The main difficulties in implementing a new technology arise in the first two stages (local and scalable implementation) since they are the most knowledge-intensive. It is at these stages that procedures are laid and developed that require unique knowledge and skills of developers (Grishina *et al.*; Anufriev *et al.*; Zakharova and Krivonogov, 2016a; Zakharova and Krivonogov, 2016b).

CONCLUSIONS:

Like the introduction of any complex information system, the introduction of BIM technology entails complexity, primarily because the unknown always seems more significant and complex. The unsuccessful implementation occurs, in particular, because some believe that learning software is enough to switch to new technology within the industry, in particular, in the training of civil engineers – skilled personnel for the construction industry, in which innovative development and the inevitable transition take place to a new design style. It turns out that they apply new tools to old methods, old processes and the previous structure of their organization,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

but first it is necessary to correctly change the processes.

It is important to correctly identify goals and priorities and find ways of their implementation. The main thing is to remember that in itself, learning to individual software products will not help to implement BIM – this is a typical misconception.

Information modeling technologies – BIM design in the field of construction are moving from the category of innovation to the industry standard. Consequently, the task of training personnel with a new full-fledged BIM thinking in the design, construction, and operation of facilities is a priority and relevant for construction universities and construction industry. The strategic development of the construction industry with an orientation toward informational modeling of building objects is aimed at changing the methods and technologies of training future civil engineers ready for collective work, which BIM design cannot exist without. The entire educational process should be built on close cooperation between student teams and end-to-end system design throughout the entire course of studies at the university. The concept of innovative construction education should allow organizing the education of future civil engineers, consistently reflecting the entire lifecycle of construction projects ("Plan – Design – Implement – Manage").

For successful development and implementation of new educational programs and technologies for teaching innovative methods of modern information modeling, it is necessary to create a single team of an educational program, which includes methodologists of vocational education, teachers of principal subjects, and representatives of interested enterprises.

REFERENCES:

1. Anufriev, D.P., Petrova, I.Yu., Shikulskaya, O.M. *Implementation of DIM tools in the educational process of a construction university*. http://aracy.рф/journal/files/documents/44-redaktor/prsk_2015/prsk_2015_54-62.pdf, accessed September 2018.
2. Basic principles of BIM implementation. Autodesk, Inc. http://damassets.autodesk.net/content/dam/autodesk/www/campaigns/BTT-RU/Implementing%20a%20BIM%20Business%20Transformation-ru.pdf, accessed September 2018.
3. Camarinha, R. *Why BIM Education needs another look. The BIM Hub*, **2016**. https://thebimhub.com/2016/05/08/why-bim-education-needs-anotherlook/#.VzIr4Pl96Uk, accessed September 2018.
4. Dainty, A., Leiringer, R., Fernie, S., Harty, C. Proc. of the 2015 *Engineering Project Organization Conference (EPOC)*, The University of Edinburgh, Scotland, UK, **2015**.
5. Grishina, N., Chalyi, Yu., Mitsko, D. *Development and implementation of BIM-standard, PH Construction expert*. https://ardexpert.ru/article/9553, accessed September 2018.
6. Implementation of BIM in design, development and construction organizations: GENPROEKT. http://genpro.ru/vnedrenie-bim, accessed September 2018.
7. Kassemm M., Kelly, G., Dawood, N., Serginson, M., Lockley, S. *Built Environment Project and Asset Management*, **2015**, *5(3)*, 261-277.
8. Krivonogov, A., Zakharova, G., Kruglikov, S., Plotnikov, S. MATEC *Web of Conferences*, **2018**, *146*, 01001.
9. Ministry of Construction of Russia adopted a plan for the phased introduction of BIM technologies in the field of industrial and civil construction: InterCAD, **2015**. http://icad.spb.ru/news/122/, accessed September 2018.
10. NOPRIZ introduced the concept of the Strategy of innovative development of the construction industry until 2030. NOPRIZ. All-Russian non-governmental non-profit organization – an all-Russian inter-sectoral association of employers. http://nopriz.ru/news/archives/?ELEMENT_ID=14492, accessed September 2018.
11. Pärn, E.A., Edwards, D.J., Sing, M.C.P. *Automation in Construction*, **2017**, *75*, 45-55.
12. Pismerov, K. *CAD and Graphics*, **2012**, *4*, 61-64.
13. Project of 12.20.2015 Strategy of innovative development of the construction industry of the Russian Federation for the period until 2030: Ministry of Construction and Housing and Communal Services of the Russian Federation. http://www.nostroy.ru/news_files/2016/SIR

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

SO.pdf, accessed September 2018.
14. Reuter, T. *Construction and Urban Management*, **2016**, *164*, 46-55.
15. Scott, L. *International Journal of Construction Education and Research*, **2015**, *11(2)*, 78-78,
16. Shelbourn, M., Macdonald, J., Mills, J.E. *Proceedings of the 10th 670 BIM Academic Symposium*, Orlando, USA, **2016**.
17. Talapov, V.V. *BIM technology: training new personnel. Isicad. Your window for the world of CAD*, **2014**. http://isicad.ru/ru/articles.php?article_num=16712, accessed September 2018.
18. Talapov, V.V. *Implementation of BIM into the enterprises: an analysis of typical errors*, **2016**. https://ardexpert.ru/article/6649, accessed September 2018.
19. Zakharova, G., Krivonogov, A. *II International Conference "Safety Problems of Civil Engineering Critical Infrastructures"*, Ekaterinburg, Russian Federation, 116-120, **2016a**.
20. Zakharova, G., Krivonogov, A. *Izvestiya Vuzov. Physics*, **2016b**, *8/2*, 37-40.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

***Table 1**. Mastering the roles of designers of the life cycle of a construction project in some disciplines in teaching students in the area 08.03.01 Construction, the major "Industrial and civil construction"*

Year	Subject (discipline)	Form of control	The roles of designers at the stages of the life cycle of BIM-design
I year	Engineering and computer graphics	credit	Architect, constructor
II year	Fundamentals of Architecture and Building Constructions	exam	Architect, constructor
	Electricity supply and the basics of electrical engineering	exam	Specialists in engineering networks
	Fundamentals of heat and gas supply and ventilation	credit, course project	Specialists in engineering networks
	Fundamentals of water supply and water disposal	credit, course project	Specialists in engineering networks
	Technological processes in constructione	exam, course project	Technologist
III year	The architecture of buildings and structures	credit, course project	Architect, constructor
	Organization, planning, and management in construction	credit, exam	Specialists in working documentation
	Technology of building	exam, course project	Technologist
	Polymeric materials constructions	credit, exam, course project	constructor
	Metal structures, including welding	exam, course project	constructor
	Reinforced concrete and stone structures	exam, course project	constructor
IV year	The architecture of buildings and structures	exam, course project	Architect, constructor
	Metal structures, including welding	exam, course project	constructor
	Reinforced concrete and stone structures	exam, course project	constructor
	Foundations	credit,	constructor

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

	exam, course project	
Automated calculation of building structures	credit	constructor
The organization, planning, and management in construction	exam, course project	Specialists in working documentation
Pricing in construction and budgeting	exam, course project	Specialists of the estimates
Elective courses: ▪ Designing large-span and special buildings and structures ▪ Space-planning solutions in the reconstruction ▪ Designing buildings for areas with specific geophysical conditions	credit	Architect, constructor, Specialists in engineering networks, Specialists in working documentation, specialists in the operation of structures
Elective courses: ▪ Wear building structures and assessment of the technical condition of buildings ▪ The technology of repair and restoration works ▪ Building operation and control of their technical condition	credit	specialists in the operation of structures, Technologist
Elective courses: ▪ Engineering survey in construction ▪ Strengthening of building structures	credit	constructor, Specialists in engineering networks
▪ Technology and organization of construction ▪ Construction organization in the reconstruction of buildings and structures ▪ Construction of buildings in severe climate conditions	credit	Architect, constructor, Specialists in engineering networks, Specialists in working documentation, specialists in the operation of structures
▪ Automated design in construction ▪ CAD-based building design	credit, course project	

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

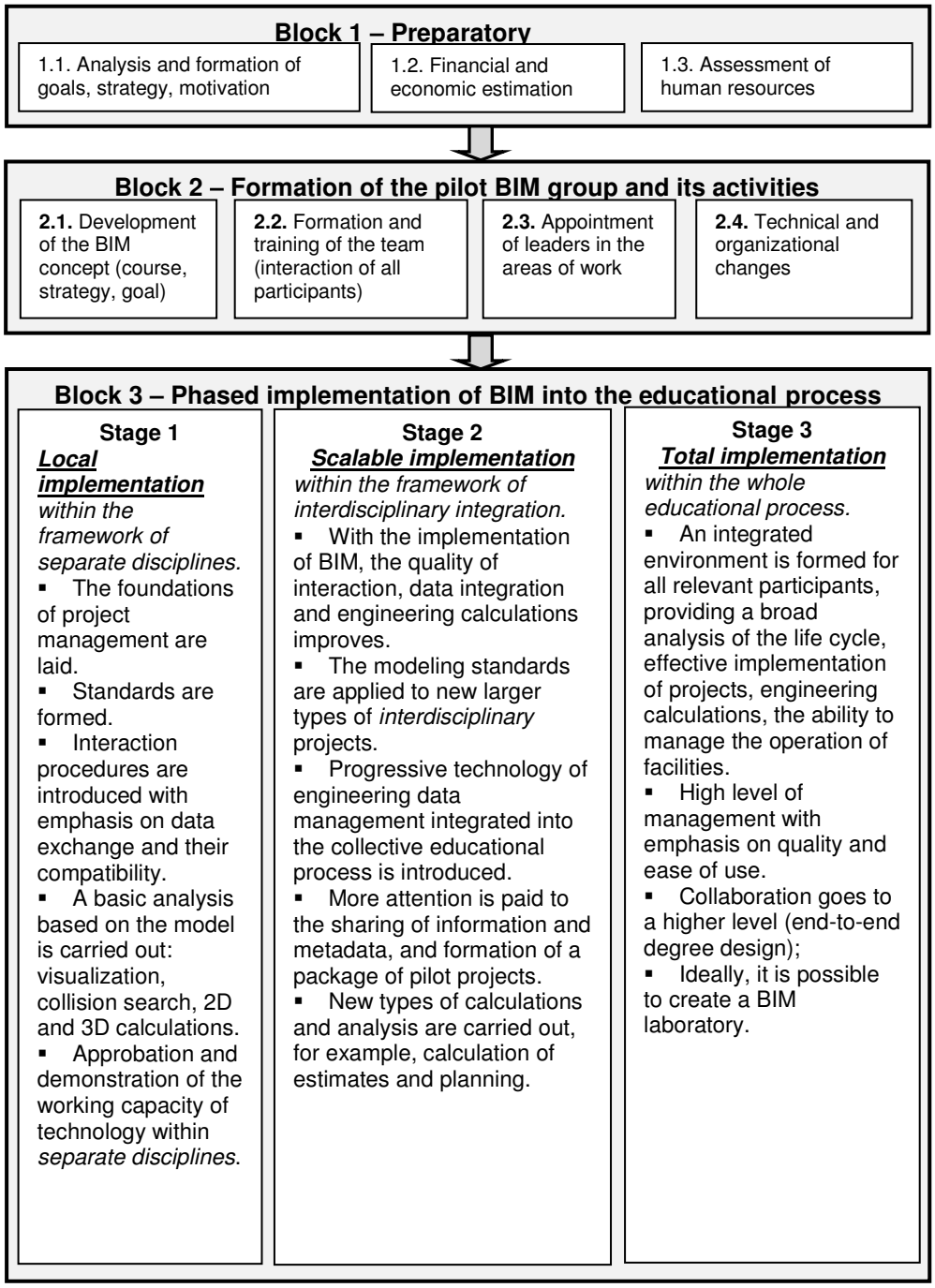


***Figure 1**. The algorithm of the organization of activity on phased implementation of BIM technologies into the educational process*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

RACIOCÌNIO DE ENGENHARIA E MEIOS DE INTRODUÇÃO EM ESTUDANTES DE INSTITUIÇÕES DE ENSINO SUPERIOR

ENGINEERING THINKING AND WAYS TO FORM IT IN STUDENTS OF HIGHER EDUCATIONAL INSTITUTIONS

ИНЖЕНЕРНОЕ МЫШЛЕНИЕ И СПОСОБЫ ЕГО ФОРМИРОВАНИЯ У ОБУЧАЮЩИХСЯ ВЫСШИХ УЧЕБНЫХ ЗАВЕДЕНИЙ

KHAIRULLINA, Larisa B.[1*]; MAMAEVA, Natali L.[1,2]; FILIPOVSKAYA, Olga I.[1]; MAKHNEVA, Arina N.[1,2]; TELUSHKINA, Tatiana Yu.[1]

[1] Tyumen Industrial University, 38 Volodarskiy Str., zip code 625000, Tyumen – Russian Federation (phone: +73452283660)

[2] Tyumen Scientific Centre SB RAS, 86 Malygina Str., zip code 625026, Tyumen – Russian Federation (phone: +73452688789)

** Corresponding author*
e-mail: hairullina.1964@mail.ru

Received 20 November 2018; received in revised form 09 December 2018; accepted 28 December 2018

RESUMO

A experiência prática de implementar as tecnologias de formação raciocínio de engenharia em estudantes de instituições de ensino superior é apresentada neste artigo. A formação do raciocínio de engenharia através da abordagem de competências é possível devido ao estudo não só do curso de aulas teóricas, mas também da solução de problemas práticos com a introdução de métodos de ensino interativos. Estudos têm demostrado que o uso de várias técnicas no processo educativo aumentam significativamente a percepção do material teórico pelos alunos e, mais importante, o interesse em uma disciplina e a necessidade de adquirir, preservar, multiplicar conhecimentos.

Palavras-chave: *Raciocínio de engenharia, competência, métodos de ensino interativos, uma abordagem orientada para a prática*.

ABSTRACT

The practical experience of implementing the technologies of forming engineering thinking of students of higher educational institutions is given in the paper. The formation of engineering thinking through the competence approach is possible due to the study not only of the theoretical lecture course but also the solution of practical problems with the introduction of interactive teaching methods. Studies have shown that the use of various techniques in the educational process has markedly increased the perception of the theoretical material by the students, and, importantly, the interest in a discipline and the need for acquiring, preserving, multiplying knowledge.

Keywords: *engineering thinking, competence, interactive teaching methods, a practice-oriented approach.*

АННОТАЦИЯ

В работе приведен практический опыт реализации технологий формирования инженерного мышления обучающихся высших учебных заведений. Формирование инженерного мышления посредством компетентностного подхода возможно благодаря изучению не только лекционного теоретического курса, но и решению практических задач с внедрением интерактивных методов обучения. Исследования показали, что использование различных приемов в образовательном процессе

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

заметно повысило восприятие обучающимися теоретического материала, а также, что немаловажно, интерес к дисциплине и потребность в приобретении, сохранении, приумножении знаний.

Ключевые слова: *инженерное мышление, компетенции, интерактивные методы обучения, практико-ориентированный подход.*

INTRODUCTION

At the beginning of the XXI century, a huge role belongs to machines and technology, which leads to a comprehension of the phenomenon of "engineering thinking", which is an object of study of various sciences: both humanitarian and engineering (Sazonova and Chechetkina, 2007; Poholkov *et al.*, 2015; Rakhmankulova *et al.*, 2015, Rozhik, 2015; Igolnik, 2018).

An interdisciplinary approach for the formation of one of the most important types of thinking that is necessary for solving engineering problems, aimed at obtaining results, solving the set goal, is the main task of engineering education in the preparation of graduates (Shalai e*t al.*, 2016; Prokhorov, 2016). Along with traditional knowledge, abilities, and skills, competencies based on a practice-oriented approach to the results of the educational process are brought to the forefront.

What is topical today is that the engineer's thinking should not only contain knowledge and skills in professional activity, but be based on the abilities of independent work, resourcefulness, ingenuity, creativity, responsibility, the ability to analyze, predict, and conduct research (Mustafina *et al.*, 2016; Zuev and Koscheeva, 2017). Therefore, the synthesis of deep theoretical and fundamental knowledge and highly developed practical skills is an important aspect of the education system of students (Piven and Pak, 2001; Rogotneva, 2013).

THE SUBJECT OF RESEARCH AND WAYS OF FORMING ENGINEERING THINKING IN STUDENTS OF HIGHER EDUCATION INSTITUTIONS

The subject of the study is the educational process using interactive teaching methods to form one of the priority areas in education – engineering thinking of students in higher education.

Since one of the main tasks of higher education is the preparation of graduates who are ready for professional work and possess engineering thinking, teachers with the help of various interactive teaching methods apply a competency-based approach in education aimed at the formation of general cultural (GC), general professional (GPC) and professional (PC) competences. The formation of a competency-based approach is possible due to the study not only of the lecture theoretical course but also the solution of practical problems, which is the subsequent formation and development of the graduates' engineering thinking (Khairullina, 2003; Khairullina, 2007; Kvashnina *et al.*, 2009). At the same time, various pedagogical technologies both in lectures and in practical and laboratory classes implement:

– information and communication technology;

– modular training technology;

– project-based learning technology;

– resource-saving and health-saving technologies;

– traditional technology based on the principles of didactics.

Also, in practical classes, critical thinking technology is used, for example, with the help of the following methods: the method of control questions on a given topic, "mutual interrogation," brainstorming, and essays.

It is very important in the process of training to prepare students for the practical orientation of the acquired knowledge, therefore, in the process of training with the purpose of forming engineering thinking, the following pedagogical methods can be used: simulation games that represent the relationship of simulation modelling and role behavior of participants in the process of solving typical professional and educational tasks. For example, according to the training manual for students of higher education institutions of the oil and gas profile "Environmental Protection" (Starikova *et al.*, 2000), published by teachers of our

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

department and admitted by the educational and methodological association of Russian universities in oil and gas education, while studying the discipline "Ecology" and considering the topic "Study of the cycles of substances in the environment" it is possible to organize a game "Carbon cycle", which gives an idea of the continuous cycle of carbon atoms in the biosphere. Also, elements of the game are used in the study of the discipline "Life Safety", which is the basic (compulsory) part of the professional cycle of disciplines of all specialties and training areas included in the federal state educational standards for higher education (FSES HE) and curricula.

So, for example, the tasks of the business game "Public actions in emergency situations" are control of knowledge and skills on the topics "Emergency situations of civil and military time" and "First aid to victims"; development of speed-strength training; development of communicative abilities of students. The game-like form of the lesson is created with the help of various methods: inclusion of sound effects, carrying out of relay evacuation, the announcement of chemical danger, the creation of situations for the organizing a post for chemical observation, first aid to a teammate. Practice shows that the following elements should be included in the game scenario: introductory word of the instructor with the explanation of the tasks of the lesson, assessment system, signal of the civil defense "Attention to all!", emergency broadcast network announcement, relay-evacuation and dressing in personal protective equipment against the clock, as well as an algorithm for providing first aid to the victims.

Also in the learning process, the case method (Ekimova, 2014; Aitbaeva, 2015; Vinevskaya, 2015; Lipatnikova and Mechik, 2018) (the analysis of a specific situation and the solution of situational problems) is widely used, the advantage of which is the opportunity to optimally combine theory and practice, which seems to be quite important in the learning process. When developing engineering thinking, it is desirable for students to apply this approach repeatedly during the academic year or module, since in the future the graduate develops a stable skill in solving practical problems (Tolochina, 2013). Here are some examples of formulations of tasks: "Develop a method for the reclamation of oil-contaminated lands..."; "Draw up a flowchart and describe the sequence of actions..."; "Develop measures to clean up the water body..."; "Draw up a structural diagram of the sequence of works on the reclamation of disturbed lands...". Also, with the help of the case method, it is proposed to conduct a practical work on the topic "Calculation of natural and artificial lighting in a production room", which is presented in the training manual for students of higher education institutions of the oil and gas profile "Life Safety and Industrial Safety", published by teachers of our department and admitted by the educational and methodological association of Russian universities in oil and gas education (Starikova, 2002) when studying the discipline "Life Safety". In the course of this practical work, students calculate the coefficient of natural light, luminous flux and are engaged in selecting lamps for a specific room.

In order to form a competence approach in the process of studying the material, the group method of training is used. As an example, let us take the method of "facilitation" (Kalashnikova and Malinin, 2014; Dimukhametov, 2006; Fil, 2013) as a professional organization of the process of group work, involvement, increasing the interest of students, as well as maximizing their potential and forming engineering thinking. A concise psychological dictionary explains this concept in the following way: "increasing the speed or productivity of an individual's activity due to the actualization in his mind of the image of another person (or group of people) acting as a rival or observer of the actions of that individual" (Rais, 2014). So, as an example, let us take a practical work on the topic "Investigating and recording accidents at work", which is performed by a group method. In the process of this work, subgroups consisting of 4-6 people conduct an investigation of an accident, make up an act in the form N-1, and draw conclusions (Starikova, 2002).

Also, the method of facilitation of group work can be applied when performing practical work on the topic "Study of individual psychological properties and personality relations by the method of generalized independent characteristics." The method of generalized independent characteristics, developed by K.K. Platonov, involves generalizing judgments about the personality properties of the person being studied. According to this method, a number of persons (who know him well), for example, classmates, are asked questions about the characteristics of the activity, behavior based on typical cases of the life of the assessed employee. Generalization of estimates makes it

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

possible to neutralize random judgments, while stable forms of behavior are reflected in the consistency of estimates. Ultimately, there is a way to evaluate the properties "by life indicators," which has long been recognized in labor psychology (Starikova, 2002) In the course of this practical work, students are divided into subgroups of 4-6 people, one person is assessed by all representatives in the subgroup, which reduces the role of chance. Then a psychogram of the individual and a psychogram of the profession are built, a comparative analysis of the correspondence between the properties of the personality and the requirements to these properties of the profession is made, the most important professional qualities are singled out.

The technology of modular training is used for students of the area "Technospheric Safety": disciplines are grouped into modules, which presupposes the formation of new experience and its theoretical comprehension through practical application. The theoretical lecture course is consolidated by practical studies on production and pre-diploma practices. Continuous practical training of students is realized with the purpose of expansion and consolidation of theoretical knowledge obtained at the university through the gradual study of production processes at industrial sites of enterprises, as well as mastering advanced technologies, professional skills, methods of work and management, and gaining experience in the production team. The educational process for modular training is organized by alternating theoretical training, implemented on the basis of the university and practical training, carried out at production sites. In addition to practices, teachers of the department regularly arrange field trips to industrial enterprises for students in order to form their engineering thinking.

Solving the tasks of modern education is impossible without increasing the role of independent work of students compared to study material, increasing the responsibility of teachers for developing independent work skills, stimulating professional growth of students, fostering their creative activity and initiative. Independent work of students (IWS) is a planned work of students, performed on the instructions and with the methodical guidance of the teacher, but without his direct involvement (Petrov and Filipovskaya, 2016; Petrova and Filipovskaya, 2016). At the department "Technospheric Safety" the following types of IWS have realized: an extracurricular independent work; classroom independent work, which is carried out under the direct supervision of the teacher; creative work, including research work. Extracurricular activities include, for example, the assignment "Collection of minerals" in the discipline "Earth Sciences": students are encouraged to take photographs of various minerals used in the construction of buildings, structures, architectural monuments in Tyumen with their detailed description. Training for the discipline "Expertise of industrial safety" involves working in groups and conducting an independent examination of the industrial safety of a hazardous production facility. At the end of the semester, students present the report to the teacher.

The use of software tools in the field of computational modeling in the preparation of students for the area "Technospheric Safety" is aimed at the formation of general professional and professional competencies: the ability to perform computer modelling of the studied processes, as well as to take into account the current trends in the development of information technology in their professional activities. Therefore, the use of software today should not be just a recommendation, but an integral part of the educational process and must be included in a compulsory program that ensures effective and high-quality training of students. To date, some of the most popular software tools are from the field of numerical simulation. Their use helps to solve a number of tasks to ensure industrial and environmental safety, in particular, relevant for the area of "Technospheric Safety".

With a traditional training system, performing laboratory work on real installations can be difficult in terms of safety. For example, when carrying out the laboratory work "Study of the flame-extinguishing process in the gap," it is necessary to use flammable chemicals, some of which also refer to extremely hazardous substances from a toxicological point of view (for example, benzene). To solve this problem in the discipline "Life Safety" several virtual laboratory works have been developed:

– Study of the effect of the height of the suspension of light fixtures on the illumination of workplaces and the voltage deviation from the nominal;

– Study of lighting parameters of artificial light sources;

– Study of the flame-extinguishing process in the gap;

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

– Study of the fire hazard of building materials.

To write the algorithm for such works, real installations were used, which are available in the laboratory of life safety of the department "Technospheric Safety". Virtual laboratory work allows using any substances, regardless of the degree of their danger. Virtual laboratory works are quite an effective and safe replacement of traditional works performed on real installations and can be successfully used in teaching technical disciplines.

For the purpose of forming professional competencies of students, work programs, for example in the disciplines "Ecology", "Life Safety", can be supplemented with sections (topics) that correspond to the qualification characteristics that the graduate needs to carry out a certain type of professional activity, function, i.e. work programs must include the federal state educational standard in various areas of training and the professional standard. So, according to FSES HE in the area of training 20.03.01 "Technospheric Safety" (bachelor's level), the field of professional activity of graduates who mastered bachelor's programs includes ensuring human security in the modern world, creating a technosphere that is comfortable for human life and activity, minimizing the technogenic impact on the environment, preservation of human life and health through the use of modern technical means, methods of monitoring and forecasting (Order of the Ministry of Education…, 2016). Let us give an example of a number of professional standards:

– a specialist in environmental safety (in the industry), the main objective of the professional activity is developing a set of organizational and technical measures aimed at ensuring environmental safety, minimizing the negative impact of economic and other activities in the industry on the environment (Order of the Ministry of Labour…, 2016);

– a specialist in the field of labor safety – the prevention of accidents at work and occupational illnesses, the reduction of the level of impact (elimination of impact) of harmful and (or) hazardous production factors, occupational risk levels on workers (Order of the Ministry of Labour…, 2014);

– a specialist in ensuring industrial safety in the operation of equipment operating under excessive pressure and/or lifting structures – the organization and provision of industrial safety for the operation of lifting structures and equipment operating under excessive pressure (Order of the Ministry of Labour…, 2015).

As the experience of teaching with the use of resource-saving technologies shows, it is possible to achieve higher results in training, since only in an atmosphere of psychological comfort and emotional uplift the work capacity of students markedly increases. Therefore, in the educational process, it is important to take into account individual traits and capabilities of the learner; in this regard, it is necessary to promote the saving of mental resources (Makuseva, 2012). So, for example, with the purpose of a positive moral and psychological climate of the team, the study of the processes of developing and adopting a group decision, as well as discovering the leadership qualities of students, in curatorial hours of academic groups the business game "Shipwrecked" is used. It is described in the book "Group Psychotherapy" by Kjell Rudestam, an American psychologist, member of the Academy of Clinical Psychology (Rudestam, 2001). The practice has shown that extracurricular educational work, in particular, curatorial hours using interactive teaching methods, contributes to the creation of a strong, friendly, efficient team of the student group (Kuryachaya, 2017; Mamaeva e*t al.*, 2016; Popova, 2015; Ezroh, 2016).

It is also very important to use health-saving technologies in the educational process, namely, to consider the microclimate parameters in the classroom, the correct alternation of activities, the use of business games and group methods in training, the well-being of students and teachers, as all this leads to a better mastery of knowledge, and, as a consequence, to better results.

ANALYSIS OF THE EFFECTIVENESS OF THE USE OF INTERACTIVE TEACHING METHODS:

In the understanding of "engineering thinking" we are in agreement with the opinion of researchers (Ivanov, 1995; Dontsova and Arnautov, 2014) who define this phenomenon as a special kind of thinking that emerges and manifests itself in the solution of engineering problems, allowing quickly, accurately and ingeniously solving tasks aimed at meeting

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

technical requirements for knowledge, ways, and methods for the creation of technical means and organization of technologies. Therefore, in order to determine the effectiveness of the use of interactive teaching methods, proposed by us in paragraph 2, the questionnaires of students were conducted. 42 people participated in the survey who actively participate in the development of the curriculum, consciously chose the engineering profession and achieve good learning outcomes. The questionnaire offered to evaluate the importance of the proposed competencies in their future profession and the level of their implementation in the learning process.

Each of the competencies proposed in the questionnaire characterizes the development of an element of engineering thinking which has the following structure:

– technical thinking – the ability to analyze the composition, structure, organization, and operation of technical objects in changed conditions;

– constructive thinking – the construction of a specific model for solving the problem posed or a task, which is understood as the ability to combine theory with practice;

– research thinking – the definition of the novelty in the task, the ability to compare with known classes of problems, the ability to argue one's actions, results and draw conclusions;

– economic thinking – the reflection of the quality of the process and the result of the activity from the standpoint of market requirements (engineers need not only knowledge in their field, but also the ability to present their capabilities and realize the result of the activity) (Dontsova and Arnautov, 2014; Mustafina, 2011).

A questionnaire survey shows that students understand the importance of competencies that characterize the formation of engineering thinking. We have discovered that the level of implementation of the proposed competencies, characterizing the development of both the technical, constructive, research and the economic element of engineering thinking is higher in comparison with the importance of the relevant competencies in their future profession (Figure 1). The results of the questionnaire show the high effectiveness of practice-oriented learning and interactive ways of conducting classes at the university.

CONCLUSION:

Thus, the use of various interactive methods in the educational process contributes to the formation of engineering thinking in graduates. This structure of the educational process gives the graduate the ability to analyze technical devices, identify hazards and build models to solve goals and tasks, obtain results, build arguments for their actions, determine the novelty of their research, be ready to solve professional problems. The practice has shown that the introduction of various techniques in the educational process has markedly increased the perception of theoretical material by trainees, and, importantly, has increased the interest of students in the discipline and the need to acquire, preserve and multiply knowledge.

The formation of engineering thinking makes it possible to effectively implement the competencies obtained during training in final qualification papers (Permyakov e*t al*., 2016, Permyakov e*t al*., 2016). Students learn independently and knowingly the subject of papers, analyze literary sources, under the guidance of teachers to conduct research, develop programs. Graduates become highly qualified specialists with the skills of engineering thinking and are ready to practice or continue their studies on masters and post-graduate programs.

REFERENCES:

1. Aitbaeva, R.R. *Scientific Almanac*, **2015**, *7(9)*, 236-239.
2. Dimukhametov, R.S. *Methods of university teaching: Proceedings of the 7th Interuniversity Scientific Practical Conference*, **2006**, 100-103.
3. Dontsova, T.V., Arnautov, A.D. *Engineering Education*, **2014**, *16*, 70-75.
4. Ekimova, E.I. *Modern Foreign Psychology*, **2014**, *3(1)*, 86-97.
5. Ezroh, Yu.S. *Alma mater (Herald of Higher Education*), **2016,** *2*, 47-58.
6. Fil, T.A. *Psychology and Pedagogy: Methods and Problems of Practical Application,* **2013**, *32*, 71-75.
7. Igolnik, O.V. *Academy*, **2018**, *36(9)*, 32-33.
8. Ivanov, N.I. *Philosophical problems of engineering. (Theoretical and methodical aspects)*, Tver: Tver State University, **1995**.
9. Kalashnikova, I.V., Malinin, S.A. *Collection of scientific papers SWORLD*, **2014**, *4(15)*, 34-

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

36.
10. Khairullina, L.B. *Oil and gas in Western Siberia: Materials of the international scientific and technical conference dedicated to the 40th anniversary of the Tyumen State Oil and Gas University (Industrial Institute),* Tyumen, Russian Federation, **2003**.
11. Khayrullina, L.B. *Sociology. Economy. Politics*, **2007**, 1, 112.
12. Kuryachaya, E.A. *Actual problems of innovation development: Collection of articles of the International Scientific and Practical Conference,* Moscow, Russian Federation, **2017**, 249-254.
13. Kvashnina, S.I., Antipova, A.N., Mamaeva, N.L. *Successes of Modern Science,* **2009**, *5*, 107.
14. Lipatnikova, IG, Mechik, S.V. *Pedagogical education in Russia*, **2018**, 4, 78-84.
15. Makuseva, T.G. *Vector of Science of TSU*, **2012**, *11(4)*, 179-181.
16. Mamaeva, I.A., Zyrin, I.S., Stepanova, A.S. *Educational activities of the university in modern conditions: Proceedings of the international scientific-methodical conference,* Karavaevo, Russian Federation **2016**, 48.
17. Mustafina, D.A. *Engineering Education*, **2011**, *7*, 10-15.
18. Mustafina, D.A., Rakhmankulova, G.A., Rebro, I.V. *Criteria and essence of engineering thinking*, **2016**. http://novainfo.ru/article/5099/pdf, accessed July 2018.
19. Order of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation of March 21, 2016 No. 246 (as amended on July 13, 2017) "On approval of the federal state educational standard of higher education in the field of training 20.03.01 Technospheric safety (bachelor's level)". http://www.osu.ru/docs/fgos/vo/bak_20.03.01.pdf, accessed July 2018.
20. Order of the Ministry of Labour of Russia of 04.08.2014 N 524n (edited on 12.12.2016) "On the approval of the professional standard" Specialist in the field of labour safety". https://websot.jimdo.com/app/download/13423668532/%D0%BF-524%D0%BD.pdf?t=1522150853, accessed July 2018.
21. Order of the Ministry of Labour of Russia of 24.12.2015 N 1142n "On approval of the professional standard" Specialist for ensuring industrial safety in the operation of equipment operating under excessive pressure and/or lifting structures". http://otd-lab.ru/documents/profstandarty/profstandart-specialist-po-obespecheniyu-promyshlennoy-bezopasnosti-pri-ekspluatacii-oborudovaniya-rabotayushchego-pod-izbytochnym-davleniem-i-ili, accessed July 2018.
22. Order of the Ministry of Labour of Russia of October 31, 2016 N 591n "On approval of the professional standard" Environmental Safety Specialist (Industry)". http://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71450480/, accessed July 2018.
23. Permyakov, V.N., Vorobieva, S.V., Kazantseva, L.A., Mamaeva, N.L. *Methodical instructions for the preparation of a master's thesis for students of the direction of 20.04.01 "Technosphere safety" full-time and correspondence courses: Textbook*, Tyumen: TSOGU, **2016.**
24. Permyakov, V.N., Vorobieva, S.V., Kazantseva, L.A., Mamaeva, N.L. *Methodical instructions for the preparation of final qualifying work for students of direction 20. 03. 01 "Technosphere safety" full-time and correspondence courses: Textbook*, Tyumen: TSOGU, **2016.**
25. Petrov, G.L., Filipovskaya, O.I. *Methodical instructions for the organization of independent work of students in terms of the rating of knowledge on the discipline "Safety": Textbook,* Tyumen: TSOGU, **2016**.
26. Petrova, E.Yu., Filipovskaya, O.I. *Methodical instructions for the organization of independent work of students in terms of the rating of knowledge on the subject "Ecology": Textbook,* Tyumen: TSOGU, **2016.**
27. Piven, G.G., Pak, Yu.N. *University Proceedings*, **2001**, 3, 5-8.
28. Poholkov, Yu.P., Palyanov, M.P., Pahomova, E.A., Pavlyuchkov, G.A., Bibik, V.L., Lysenko, V.G. Sergienko, Yu.P. *Professional Education in Russia and Abroad*, **2015**, *1(17)*, 25-34.
29. Popova, O.V. *Medical education in the XXI century: traditions and innovations: Proceedings of the XX interregional educational and methodical conference,* Akhangelsk, Russian Federation, **2015**, 168-169.
30. Prokhorov, V.A. *Engineering Education*, **2016**, *19*, 21-24.
31. Rais, O.I. *Electronic Scientific and Practical Journal "Psychology, Sociology and Pedagogy"*, **2014**, *7*.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

http://psychology.snauka.ru/2014/07/331, accessed July 2018.
32. Rakhmankulova, G.A., Kuzmin, S.Yu., Mustafina, D.A., Rebro, I.V. *Formation of engineering thinking of students through research activities*, Moscow: Izdatelskiye resheniya, **2015**.
33. Rogotneva, E.N. *Personality. Culture. Society*, **2013**, *T.15, 3-4(78-80)*, 266-271.
34. Rozhik, A.Yu. *University of the XXI century in the system of continuous education: Materials of the International Scientific and Practical Conference,* Chelyabinsk, Russian Federation, **2016**, 250-259.
35. Rudestam, E. *Group psychotherapy*, Saint Petersburg: Peter, **2001**.
36. Sazonova, Z.S., Chechetkina, N.V. *Development of engineering thinking – the basis for improving the quality of education: Textbook*, Moscow: MADI (GTU), **2007**.
37. Shalai, V.V., Kosykh, A.V., Myshlyavtsev, A.V., Shtippling, L.O. *Engineering Education*, **2016**, *20*, 46-51.
38. Starikova, G.V. *Life and industrial safety, Textbook*, Tyumen: TSOGU, **2002**.
39. Starikova, G.V., Stolbova, N.V., Dorofeeva, E.S. *Environmental protection: Textbook*, Tyumen: TSOGU, **2000**.
40. Tolochina, O.G. *Case technology as one of the innovative methods of the educational environment*, **2013**. https://nsportal.ru/vuz/pedagogicheskie-nauki/library/2013/01/22/keys-tekhnologii-kak-odin-iz-innovatsionnykh-metodov, accessed July 2018.
41. Vinevskaya, A.V. *Method of case studies in pedagogy: practical work for teachers and students*, Rostov on Don: Phoenix, **2015**.
42. Zuev, P.V., Koshcheeva, E.S. *Teacher Education in Russia*, **2017**, *7*, 79-88.

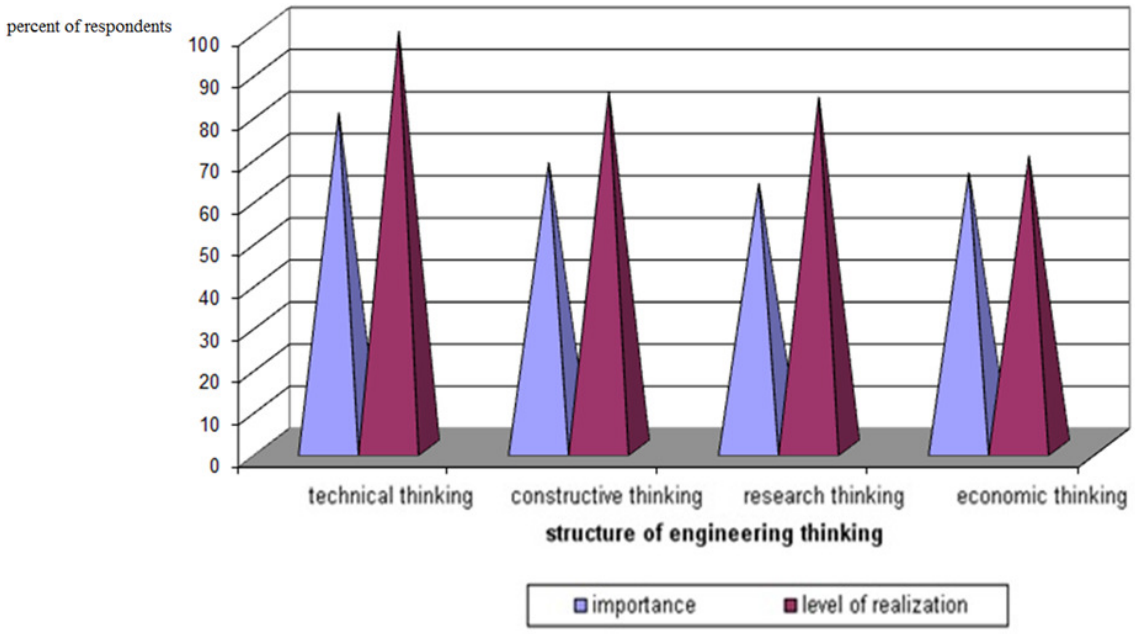


***Figure 1**. Levels of importance and implementation of engineering thinking skills*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INSTALAÇÃO EXPERIMENTAL PARA PESQUISA DA EXCITAÇÃO LUMINESCENTE DO FÓSFORO, ESTIMULAÇÃO E EXTINÇÃO POR FEIXES ATÔMICOS E MOLECULARES

EXPERIMENTAL INSTALLATION FOR RESEARCH OF PHOSPHORS LUMINESCENCE EXCITATION, STIMULATION AND EXTINGUISHING BY ATOMIC AND MOLECULAR BEAMS

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ УСТАНОВКА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВОЗБУЖДЕНИЯ, СТИМУЛЯЦИИ И ТУШЕНИЯ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ФОСФОРОВ В АТОМНО – МОЛЕКУЛЯРНЫХ ПУЧКАХ

SHIGALUGOV, Stanislav H.[1*]; TYURIN, Yuriy I.[2]; BOROVITSKAYA, Anna O.[1]; DUBROV, Dmitriy V.[1]

[1] Norilsk State Industrial Institute, Department of Physical and Mathematical Disciplines, 7 50 years of October Str., zip code 663310, Norilsk – Russian Federation
(phone: +7 (3919)421542)

[2] Tomsk Polytechnic University, 30 Lenin Ave., zip code 634050, Tomsk – Russian Federation
(phone:+7 (3822) 60-63-33)

** Corresponding author*
e-mail: fizika@norvuz.ru

Received 26 August 2018; received in revised form 30 November 2018; accepted 31 December 2018

RESUMO

As tecnologias de plasma a gás estão se tornando cada vez mais importantes em escala industrial. Contribuem para a produção e processamento de materiais utilizando o aquecimento dos produtos iniciais no jato de plasma ou a sua transferência para o estado de plasma. Portanto, o objetivo principal do trabalho é estudar a eficiência de um arranjo experimental para estudar a excitação da estimulação e a têmpera da luminescência do fósforo em feixes moleculares atômicos. Para atingir esse objetivo, foi analisada a dissociação de gases em uma descarga indutiva de alta frequência nos principais circuitos de geradores modernizados. O artigo apresenta o projeto, a construção, o hardware da instalação para o estudo da excitação, têmpera e estimulação dos cristais de fósforo por vários métodos quando expostos à superfície de feixes únicos ou cruzados de moléculas de gás e átomos de energia térmica. Fragmentos da cinética e do espectro de fotoluminescência do óxido de ítrio dopado com európio no feixe de átomos de oxigênio foram estabelecidos.

Palavras-chave: fluxos moleculares, separação catalítica, dissociação gasosa, instalação de alto vácuo.

ABSTRACT

Gas plasma technologies are becoming increasingly important on an industrial scale. They contribute to the production and processing of materials using the heating of the initial products in the plasma jet or their transfer to the plasma state. Therefore, the main goal of the work is to study the efficiency of an experimental setup for studying the excitation of stimulation and quenching of phosphorus luminescence in atomic-molecular beams. To achieve this goal, we analyzed the dissociation of gases in a high-frequency inductive discharge in the main circuits of modernized generators. The article presents the design, construction, hardware of the installation for the study of excitation, quenching and stimulation of the crystal phosphors by various methods when exposed to their surface single or crossed beams of gas molecules and atoms of thermal energy. Fragments of the kinetics and photoluminescence spectrum of yttrium oxide doped with europium in the beam of oxygen atoms were established.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Keywords: *molecular flows, catalytic separation, gas dissociation, high vacuum installation*.

АННОТАЦИЯ

Газоплазменные технологии приобретают все большую значимость в промышленных масштабах. Они способствуют получению и обработки материалов с использованием нагрева исходных продуктов в плазменной струе или их перевода в плазменное состояние. Поэтому основная цель работы заключается в изучении эффективности экспериментальной установки для исследования возбуждения стимуляции и тушения люминесценции фосфоров в атомно-молекулярных пучках. Для достижения поставленной цели в работе проанализирована диссоциация газов в высокочастотном индуктивном разряде в основных контурах модернизированных генераторов. В работе представлена схема, конструкционное исполнение, аппаратное обеспечение установки для исследования различными методами процессов возбуждения, тушения и стимуляции люминесценции кристаллофосфоров при воздействии на их поверхность одиночных или скрещенных пучков газовых молекул и атомов тепловых энергий. Установлены фрагменты кинетики и спектра фотолюминесценции оксида иттрия, допированного европием, в пучке атомов кислорода.

Keywords: *молекулярные потоки, каталитическая сепарация, диссоциация газов, высоковакуумная установка.*

INTRODUCTION

Atomic and molecular particles of thermal energy (H, O, N, O_2, CO, SO, etc.) actively influence the processes of excitation, stimulation, and quenching of the luminescence of crystal phosphors through the surface (Volkenshtein *et al.*, 1976; Sancier *et al.*, 1962; Rufov *et al.*, 1996; Breysse *et al.*, 1978; Coon, 1979, Styrov *et al.*, 1989; Denisov *et al.*, 1992; Shigalugov *et al.*, 2000; Styrov *et al.*, 2000; Georgobiani *et al.*, 2002; Shigalugov and Tyurin, 2005; Shigalugov *et al.*, 1996). This influence is of particular importance in connection with the introduction of gas-plasma technologies on an industrial scale (gas-discharge indicators, plasma panels) and the increasing use of nanotubular crystalline materials in modern means of displaying information (Ruchin, 2018). Therefore, a systematic study of these processes, obtaining on this basis new data on atomic-molecular and electronic phenomena in areas adjacent to the boundary between a non-equilibrium gas and a dispersed solid, is an important task of radiation physics, plasma chemistry, nanoelectronics.

For the experiments, we designed, built and put into operation a special high-vacuum ("oil-free" vacuum ~ 10^{-6} Pa) installation using single or crossed beams of gas atoms and heat energy molecules.

The installation (the diagram is shown in the figure 1) includes the following main parts: a vacuum chamber 1 with quartz optical windows 2–5; substrate – microburner 6 with test sample 7, connected to devices for monitoring 8 and adjusting 9 its temperature; replaceable detector 10 of an automatic microcalorimeter 11 for measuring the heat of heterogeneous reactions or the concentration of gas atoms; nozzles 12,13 for forming sample 7 and (or) detector 10 streams (beams) of neutral gas particles along two separate channels; a system for generating gas atoms 14–22; photoexcitation system 23-25 of the sample; lighting and spectral equipment 26-31; pumping means and vacuum fittings 32-41; storage system and preparation of mixtures of pure gases 42, 43; personal computer 44 with peripheral devices 8, 11, 24, 26, 29, 30, 31, 45.46 for the collection, preprocessing and visualization of experimental data.

Used high-purity gases: O_2 (99.999%), H_2 (99.998%), N_2 (99.998%), CO_2 (99.998%), SO_2 (99.9%), CO (99.9%), N_2O (99.9%) are supplied to the needle guides 34,41 through cylinders 42,43 of low (~ 10^5 Pa) pressure through two independent channels. Separate pumping and adjustment of gas pressures to working 1-10^{-1} Pa in fore vacuum lines is carried out by two rotary 35, 40 (Alcatel 2015-5 ls $^{-1}$) pumps through a system of 36, 39 cooled water and liquid nitrogen nitrogen 37, 38 traps.

MATERIALS AND METHODS

Gas dissociation is carried out in a high-frequency inductive discharge in the main circuits of the upgraded UHF generators – 66 (the frequency on the main harmonic is 40.68 MHz,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

the power in the discharge is up to 200 W) 15 and 21. Single and crossed at sample 7 atomized or molecular flows (effusion beams) with an intensity of up to 1016 – 1017 cm $^{-2}$s $^{-1}$ are formed in glass discharge tubes 14, 22 with an internal diameter of 29 mm, using conical nozzles 12, 13 holes 0.8 mm. The ends of the nozzles are removed from the surface of the sample at distances of ~ 30 mm.

From ionized particles and electronically excited oxygen molecules O_2^e ($a^1\Delta_g$, $b^1\sum_g^+$ and etc.) disposed of by magnetic 24, 25 and catalytic 17 (layer Co_3O_4 on the part of the inner surface of the "oxygen" discharge tube 14) separation (Ryskin, 1984; Balandin *et al.*, 1999). Wood's light traps 18,19 allow you to suppress the scattered light discharges.

Inert gases Ar (99.998%) or Xe (99.999%) are used to “flush” vacuum lines, ion cleaning the walls of discharge tubes and nozzles. High vacuum up to 10–6 Pa in chamber 1 is provided by two magnetic discharge pumps and 32.33 (HMD – 04–400 l / s, HMD-016-150 l / s). In the presence of beams, the dynamic vacuum in the chamber is 10^{-3}-10^{-4} Pa.

The concentration of oxygen atoms is measured by the method of an isothermal calorimeter (Elias *et al.*, 1959): according to the heat of the recombination process on a replaceable wire detector 10, and in complex gas mixtures – by the luminescence method developed in our laboratory (Shigalugov *et al.*, 1996).

RESULTS AND DISCUSSION:

The concentration of hydrogen atoms is determined calorimetrically, by the method of (Volkenshtein *et al.*, 1976). The fine sample 7 under study is deposited from a suspension on a substrate micro-furnace 6, made according to the type of indirectly heated cathode (profiled nickel substrate protected by a thin layer of SiO_2 with an indirect nichrome heater). A platinum (Pt) thermometer with a multimeter output 8 (B7-21A) is built into the substrate to measure the resistance in a 4-wire circuit. Data from the digital output of the multimeter 8 in a binary-decimal code is transmitted to a personal computer (PC) 44 through the first port of the digital I / O card LA-48D using the interrupt signal generated by B7-21A. The resistance values of the Pt-thermometer obtained from the multimeter are converted to temperature values according to a predetermined tabular (in 10K increments) calibration curve. Intermediate values are interpolated by cubic splines.

For simultaneous measurement of luminescence and heat of heterogeneous reactions (adsorption, recombination), the luminophore sample under study is applied with a thin layer on the surface of a spiral-shaped wire detector 10 protected by SiO_2 film. In this case, the heat of heterogeneous reactions is determined by the method (Elias *et al.*, 1959).

Accurately linking the readings of the PT-thermometer of the substrate 6 or the resistive detector 10 to the surface temperature of the sample under study is performed using a precision infrared thermometer (M190 MIKRON INSRUM.CAMP.) With an error of ≤1%. Temperature control of the sample, or linear heating when removing the curves of thermally stimulated luminescence, is carried out by the filament current of the micro- furnace of the substrate 6 defined by source 9 (stabilized source HY-3005, or a special thermostat providing linear heating).

For photoexcitation (photostimulation) of the samples under study in the wavelength range of 230–1200 nm, an arc mercury-xenon lamp (L2482 HAMAMATSU) is used as the source 25, and a deuterium lamp (DDS – 30) in the region of 190-230 nm. Both lamps are powered by a constant stabilized current. The required spectral region of exciting radiation in the range of 190-1200 nm is highlighted by a high-aperture (1: 2.9 relative aperture) monochromator 24 (ML 44 SOLAR LS) equipped with a photo shutter with an iris diaphragm 23 for fast shutdown and adjustment of the output light flux.

Narrow-band luminescence spectra of samples in the visible region are recorded photoelectrically in the photon counting mode using high-precision (reproducibility <1Å, resolution up to 3 Å) of monochromator 30 (MDR 206 LOMO), working with PC 44 commands. – counting head 29 (H7467-01 HAMAMATSU), control is carried out with the PC 44 through the RS-232C serial interface. For recording and processing of spectra using its own software. In the process of scanning the monochromator passes through a selected range of wavelengths. At each step, the current wavelength, the intensity of the glow and the temperature of the sample are recorded. At the end of the spectrum registration in the automatic mode, the

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

wavelength and intensity of radiation are adjusted, taking into account the nonlinearity of the monochromator and the selectivity of the measuring path of the installation.

In the region of 350-1150 nm, the emission spectra of samples with a resolution of 1.5 nm are recorded by a wideband spectrometer on a CCD 31 (QE 65000 OCEAN OPTICS), also controlled by a RS 44. The device allows you to capture the full range of time from 10 ms (from sources of high brightness) to 10 min (threshold light fluxes) with a width of 50 μm in the entrance slit. The recorded spectra are programmatically corrected taking into account the hardware functions of the measuring path taken from the black body radiation (SI photograph lamp 6.5–50, T_{color} = 2854 K) and spectral lamps (mercury-helium, neon).

The luminescence intensity kinetics are recorded using photoelectric devices 27: a photomultiplier (PMT – 84–3), the signal from which through a preamplifier (C7319 HAMAMATSU) is fed to a computer recording module 26 (ML-840 Power Lab 4/20 ADInsruments), or (at low intensities) – a photosensor module (H7468-01 HAMAMATSU), also mated with an IBM PC 44. Both devices can be alternately connected to the quartz window 2 through the filter cartridge cassette 28.

All fixed electrical signals: about the sample temperature (from multimeter 8), about the heat of heterogeneous reactions (from microcalorimeter 11), about the luminescence kinetics (from recording module 26 or photosensor module 27), about the luminescence spectrum (from photon-counting The heads 29 and the spectrometer 31) are fed to an automatized workstation (AWP), which is used to collect, process and visualize experimental data. AWP includes: personal computer 44, with installed boards – ADC, digital input-output, pulse counter; separate peripheral devices – monitor 45, printer 46.

Due to the necessity of simultaneous recording of several signals, synchronization of data reading between different devices, conversion of fixed digital information into the corresponding physical quantities, we developed software that allowed us to automate the recording and processing of all basic experimental data. Development environment – Borland C++ Builder 6. The software is controlled from under Windows 98, 2000, XP. Data recording is carried out in a format that allows their further processing using standard packages (MathCad, MathLab, Maple). All the main graphic and digital information are presented visually on the monitor.

Section ab is in a vacuum of 5*10-5 Pa; bc – in a beam of oxygen atoms O ($^3P_2$) with a density of $8*10^{16}$ $cm^{-2}*s^{-1}$; cd – with the rapid overlapping of the oxygen beam, in a vacuum of 1*10-4 Pa. To illustrate the effect of atomic-molecular beams on the luminescence of phosphorus in Fig. 2 and Fig. 3, fragments of the kinetics and photoluminescence spectrum of the disperse widely used in plasma panels are shown. $Y_2O_3:Eu^{3+}$, taken on the installation in a vacuum and in a beam of oxygen atoms.

CONCLUSIONS:

The obtained data on the regularities of the surface luminescence induced by oxygen and oxygen-containing particles open up new possibilities in the study of electronic and atomic-molecular processes on the surface of solids in the presence of a nonequilibrium gas atmosphere. This concerns both the elucidation of the mechanisms of excitation of surface luminescence centers and the establishment of the constants of individual stages of elementary interactions on the surface (adsorption, desorption, recombination, diffusion of gas particles, and the stoichiometric completion of the lattice).

The experimental setup allows us to study the laws of excitation, stimulation and quenching of the luminescence of a solid body that has the properties of crystal phosphorus, when exposed to its surface beams of gas particles (atoms, molecules) and on this basis. It helps to obtain data on atomic-molecular and electronic processes at the boundary between a solid and a non-uniform gas by luminescent-kinetic, calorimetric and spectroscopic methods.

REFERENCES:

1. Balandin, A.A., Lopaev, D.V., Klopovsky, K.S. *Plasma Physics*, **1999**, *25(11)*, 969-980 (1999)
2. Breysse, M., Claydel, B., Faure, L., Guenin, M. *Chemiluminescence induced by catalysis. Part III. Luminescent transitions of Europium ions in a Thoria matrix during the catalysis of carbon monoxide oxidation*, New York-

• ISSN 1806-0374 (impresso) • ISSN 1806-9827 (CD-ROM) • ISSN 2179-0302 (meio eletrônico)

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

London: Rare Earths Mod. Sci. and Technol., 1978.

3. Coon, V. *Surface Sci.*, **1979**, 88, 42-50.
4. Denisov, V.N., Mavrin, B.N., Rouen, J. *Journal of Applied Spectroscopy*, **1992**, *57(5-6)*, 489-492.
5. Elias, L., Ogryslo, E.A., Schiff, H.I. *Canad. J. Chem*, **1959**, *37(10)*, 1680-1689.
6. Georgobiani, A.N., Gruzintsev, A.N., Volkov, V.T. *Semiconductor Physics and Technology*, **2002**, *36(3)*, 284-288.
7. Ruchin, A.B. *Periódico Tchê Química*, **2018**, *15(30)*, 152-159.
8. Rufov, Yu.N., Kadushin, A.A., Roginsky, S.Z. *Report USSR Academy of Sciences*, **1996**, *171(4)*, 905-906.
9. Ryskin, M.E. *Journal of Physical Chemistry*, **1984**, *58(3)*, 786.
10. Sancier, K.M., Fredericks, W.J., Wise, H. *J. Chem. Phys*, **1962**, *37(4)*, 854-860.
11. Shigalugov S.Kh., Tyurin Yu.I., *Bulletin of the Tomsk Polytechnic University*, **2005**, *308(3)*, 87–94.
12. Shigalugov, S.Kh., Styrov, V.V., Tyurin, Yu.I., Figurovsky, E.N. *Method for determining atomic oxygen in gases*. Patent RU 2065152 G 01 N 21/64, 1996
13. Shigalugov, S.Kh., Tyurin, Yu.I., Styrov, V.V., Tolmacheva, N.D. *Kinetics and Catalysis*, **2000**, *4*, 586-592.
14. Styrov, V.V., Tolmachyova, N.D., Tyurin, Yu.I., Shigalugov, S.Kh. *Surface. X-ray, Synchrotron and Neutron Studies*, **2000**, *4*, 68–74 (2000)
15. Styrov, V.V., Tyurin, Yu.I., Shigalugov, S.X. *Kinetics and Catalysis*, **1989**, *30(2)*, 382-388.
16. Volkenshtein, F.F., Gorban, A.N., Sokolov, V.A. Radical recombination luminescence of semiconductors, Moscow: Nauka, **1976**.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

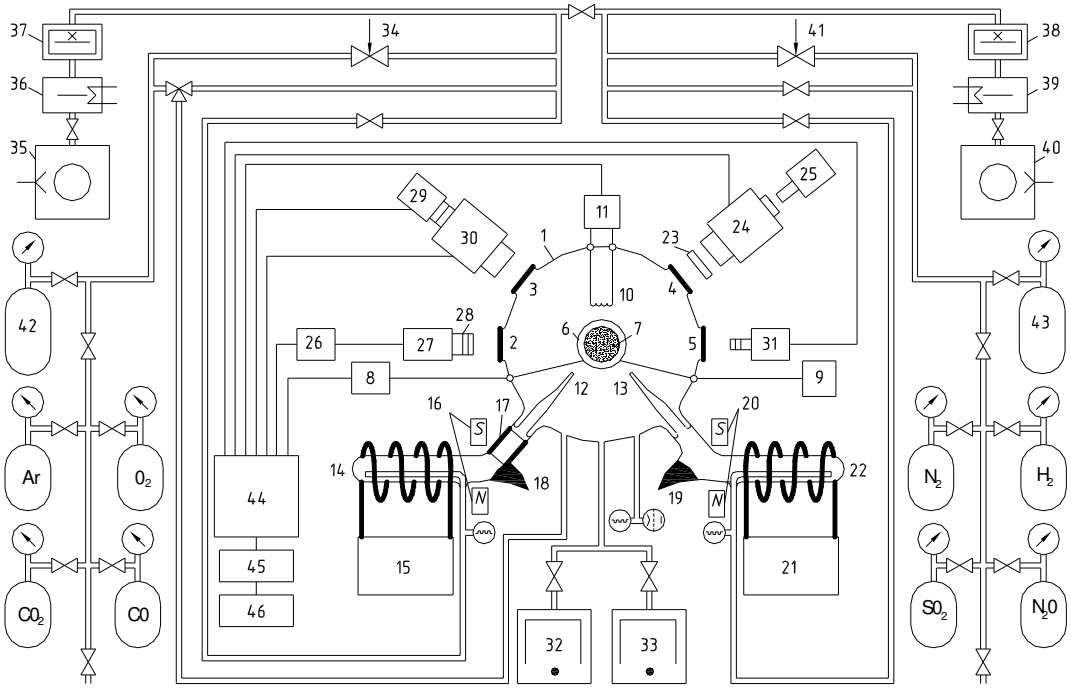


Figure 1. Experimental setup: 1 – vacuum chamber; 2-5 – optical windows; 6-substrate micro furnace; 7 – sample; 8 – multimeter B7-21A; 9 – current source HY-3005 (special thermostat); 10 – microcalorimeter detector; 11 – automatic microcalorimeter; 12,13 – glass nozzles; 14,22 – discharge tubes; 15.21 – RF generators; 16.20 – permanent magnets; 17 – trap of electronically excited molecules; 18.19 – Wood's light traps; 23 – photo shutter with iris diaphragm; 24 – high-aperture monochromator ML 44; 25 – source of photoexcitation H2482 (DDS-30); 26 – recording module ML-840; 27 – FEU-84-3 with a preamplifier C7319 (photo sensor module N7468-01); 28 – cassette with light filters; 29-photon-counting head H7467-01; 30 – diffraction monochromator MDR-204; 31 – QE 65000 CCD spectrometer; 32.33 – magnetic discharge pumps NMD-04, NMD-016; 34.41 – needle leak; 35.40 – Alcatel fore-vacuum pumps 2015; 36.39 – water cooled oil vapor traps; 37.38 – nitrogen traps; 42.43 – low pressure gas cylinders with MD-49-A man-vacuum meters; 44 – personal computer; 45 – monitor; 46 – printer

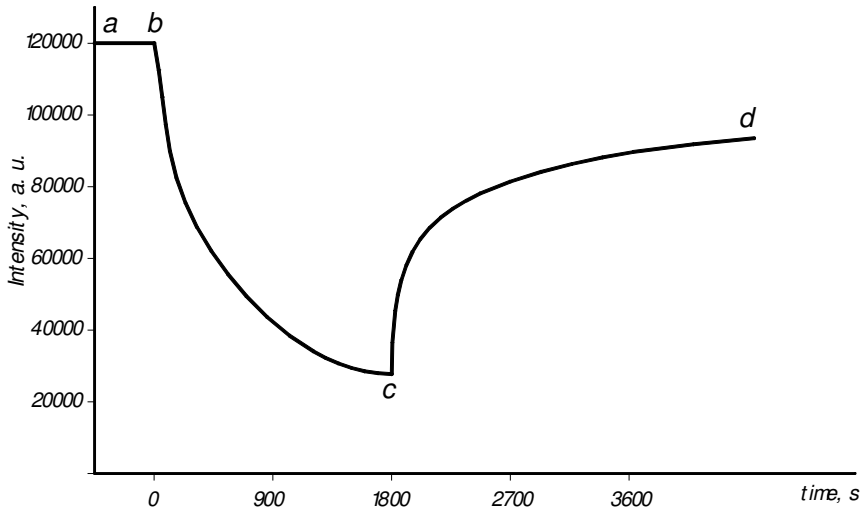


Figure 2. *The photoluminescence kinetics of Y_2O_3: Eu^{3+} (0.1% mass.) In a band with a maximum near 611.3 nm, excited by UV radiation of 5.90 eV, at a sample temperature*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

of 600 K

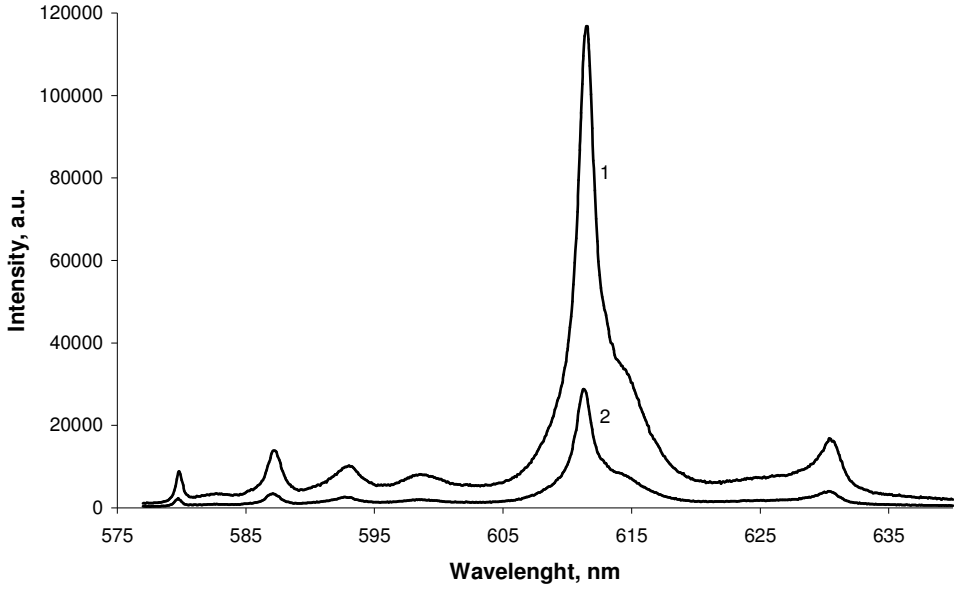


Figure 3. *The photoluminescence spectrum of Y_2O_3: Eu^{3+} (0.1% mass.) Excited by UV radiation of 5.90 eV at a sample temperature of 600 K. 1 – in a vacuum of 5*10-5 Pa; 2 – in the beam of oxygen atoms with a density of $8*10^{16}$ cm^{-2} *s^{-1}, 30 minutes after the beginning of exposure to the beam*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ESTUDO COMPARATIVO DA MODELAGEM GEOQUÍMICA DE ESPECIAÇÃO UTILIZANDO O SOFTWARE GEODELING

COMPARATIVE STUDY OF GEOCHEMICAL SPECIATION MODELING USING GEODELING SOFTWARE

KLUNK, Marcos Antonio[1*]; DASGUPTA, Sudipta[2]; SCHRÖPFER, Suellen Brasil[1]; NUNES, Bruno Vinicius Gomes[1]; WANDER, Paulo Roberto[1]

[1] Graduation Program in Mechanical Engineering, University of Vale do Rio dos Sinos (Unisinos), CEP 93020-190, São Leopoldo, RS, Brazil

[2] Department of Earth Sciences, IIT Bombay, India

** Autor correspondente*
e-mail: marcosak@edu.unisinos.br

Received 21 November 2018; received in revised form 05 December 2018; accepted 31 December 2018

RESUMO

A modelagem geoquímica é usada para entender as interações água-rocha que ocorrem na bacia sedimentar. As atividades de espécies aquosas são geralmente calculadas usando a equação de Davies, a equação de Debye-Hückel, B-Dot ou Newton-Raphson. Realizamos um estudo comparativo da especiação geoquímica utilizando três softwares diferentes: PHREEQC™, Geochemist's Workbench™ (GWB) e GEODELING (código próprio). Detalhes de cada software são cuidadosamente analisados, levando em conta a distribuição, mobilidade e disponibilidade de espécies químicas em ambientes geológicos. Podemos observar resultados muito semelhantes na especiação ao trabalhar com sistemas de baixa temperatura. GWB™ e GEODELING empregam um sistema integrado para definir quando usar a equação de Davies, Debye-Huckel ou B-Dot, de acordo com o valor da força iônica da solução. A utilização do GEODELING permite comparar os resultados com o software GWB™ e PHREEQC™ com um alto grau de aceitação para baixas temperaturas. Para altas temperaturas, precisamos ser cautelosos no uso.

Palavras-chave: *Geochemist's Workbench™ (GWB), PHREEQC™, Debye-Hueckel, Simulação Numérica, Processos Diagenéticos.*

ABSTRACT

Geochemical modeling is used to understand water-rock interactions that occur in the sedimentary basin. Activities of aqueous species are usually calculated using the Davies equation, Debye-Hückel equation, B-Dot or Newton-Raphson. We perform a comparative study of geochemical speciation using three different software: PHREEQC™, Geochemist's Workbench™ (GWB) and GEODELING (own code). Details of each software are carefully analyzed, taking into account the distribution, mobility, and availability of chemical species in geological environments. We can observe very similar results in speciation when working with low-temperature systems. GWB™, GEODELING employ an integrated system to define when to use Davies, Debye-Huckel or B-Dot equation, according to the value of the solution ionic strength. The utilization of GEODELING allows comparing the results with software GWB™ and PHREEQC™ with a high degree of acceptance for low temperatures. Soon to high temperatures, we need to be cautious in their use.

Keywords: *Geochemist's Workbench™ (GWB), PHREEQC™, Debye-Hueckel, Numerical Simulation, Diagenetic Processes.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUCTION

The scientific community has seen progress in geochemical modeling for a natural and hypothetical environment. This development is related to numerical techniques capable of solving complex mathematical problems as well as improves the computing capacity of computers. The geochemical modeling studies and comprehension lead us back to the 60's when works as Garrels *et al.* (1967), Helgesson (1967a, 1967b) and Hengesson *et al.* (1968) started to making progress in this area. The first simulations were initially applied to understand the fundamental issues involving chemical reactions in aquatic environments. To solve problems like pollution of surface waters and assessment of diagenetic processes (involving natural formation and alteration of rocks). Due to the complexity and the timescale involved in the reactions in geological environments, it is not possible to reproduce in the laboratory the behavior of most geochemical systems.

In an attempt to create a geochemical model, it is important to keep in mind the goals and expectations that modeling will reveal. With defined goals, you can focus on the main issues and begin to identify the processes that control the geochemical system. The answers to these questions might give clues about what kind of modeling is most appropriate for the geological environment in research. In general, the processes operating in geochemical systems are complex. The choice of a simpler model with less detail can be advantageous since it will provide more results to analyze. We performed a comparative study of geochemical speciation using PHREEQCTM, Geochemist's Workbench™ (GWB) and GEODELING (own code). GEODELING is a software that we are developing. In this comparative study, we verify the distribution, mobility, and availability of chemical species in geological environments (Baccar and Fritz, 1993) as well as check the efficiency and accuracy of GEODELING. In this study, we modeled the chemical behavior of the minerals compounds known for the water from the North Sea (Morad *et al.,* 1990).

GEOCHEMICAL SPECIATION MODELING

The general concept of speciation applies to many chemical systems. It is most commonly used in the context of aqueous solutions (Batley *et al.,* 2009). Typically, such solutions include natural water systems such as sea, river, ground and lake waters. Natural waters are multi-component solutions where a network of interactions is established leading to the formation of chemical species with different thermodynamic stability. The different chemical behavior of ions in the medium leads to a different quantitative distribution of species depending on the kinetics of the process. The term chemical speciation is used to assess the distribution of a certain chemical species under different chemical forms and oxidation states (Gianguzza *et al.,* 1999; Gianguzza *et al.,* 2000). Geochemical modeling system tries to map all the reaction and processes happening in the modeled environment. As an example of the processes, we can mention complexation, oxidation, reduction, precipitation, and dissolution, just to name a few. It is natural to understand that the geochemical model system will be affected by environmental conditions such as temperature, pH, pE, oxidation and surface properties (Gianguzza *et al.,* 2004). In this context, we are developing a GEODELING code, its features and functionalities will be explained further in this study.

GEODELING – Speciation Code

The own code speciation has application in physical, chemical aqueous and geochemists useful tool with intuitive and interactive interface. GEODELING is planned as: i) speciation model – solving reaction as equilibrium reactions with the help of matrix reduction method; ii) extending options on activity correction method – Debye-Hueckel, B-dot, Pitzer and Davies and iii) adding kinetic reaction to the speciation model – recompose the speciation model to solve mineral-water interaction (Kehew, 2001; Pitzer, 1979; Pitzer, 1991).

The language chosen is C++, which is a general-purpose programming language with a bias towards system programming that supports efficient low-level computation, data abstraction, object oriented programming, and generic programming (Dale 2004; Plummer *et al.,* 1994). It provides powerful and flexible mechanisms for abstraction; that is, language constructs that allow the programmer to introduce and use new types of objects that match the concepts of an application needed. Thus, C++ supports styles of programming that rely on fairly direct manipulation of hardware resources to deliver a high degree of efficiency plus higher-level styles of programming

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

that rely on user-defined types to provide a model of computation that is closer to human's view of the task being performed by a computer (Parkhurst and Plummer, 1993; Plummer, 1984).

Geochemist's Workbench™ – GWB

GWB™ (was developed by the Department of Geology at the University of Illinois at Urbana-Champaign in 1978) use modules SpecE8 in React mode for speciation model (Bethke, 2008). The user set an initial geochemical system to be taken to thermodynamic equilibrium. The software automatically inserts a known quantity of water in the system (1 kg). Then, the user set the amounts of each solute present. At this time, the GWB™ start a calculation and necessary interactions that lead to speciation model. When GWB™ finished the simulation, output data is generated. The information contained in this file are temperature, pressure, pH, ionic strength, water activity, mass of solvent, dissolved solids, solution density and mass of the rock (Parkhurst and Plummer, 1993). An aqueous species list is formed with all solutes presents in the simulation. GWB™ solves simultaneously a set of nonlinear algebraic equations, composed by the equation of mass action and the equilibrium constant corresponding to aqueous species, gas or minerals that are contained in a database (Kehew, 2001). While GWB™ solves the equation of mass action, it is solving all the mass balance of the system. The GWB™ solve the equations using the Newton-Raphson method (Kehew, 2001).

PHREEQC

PHREEQC™ is software written in programming languages C and C++ designed to perform a wide range of geochemical calculations. PHREEQC™ is capable of (i) calculate the saturation index and speciation (ii) calculates the reactions in "batch mode" and transport one-dimensional (1D). Use the Pitzer model for high salinity water that is an outside range of application of the Debye-Huckel theory. The software uses a numerical method of integration allowing solution of ordinary differential equations, which can be generalized for the reconstruction of three-dimensional trajectories (Parkhurst *et al.,* 1999).

INITIAL CONDITIONS OF THE WATER SPECIATION IN SIMULATION

A numerical simulation study, predict the geochemical speciation of formation water (Nordstrom *et al.,* 1979) was carried out with GWB™ and PHREEQC™ software with the aim of comparing the results obtained with own code (GEODELING). The temperature used for simulations é 25, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 150 and 160°C. Baccar and Fritz (1993) studies were focused in this scenario, in which there are several interactions between the rock and formation water in different temperatures. Formation water composition was compiled from Nordstrom et al. (1979), which major element composition is shown in Table 1.

Table 1. *The chemical composition of the formation water (mM/L).*

Elements	Concentration (mM/L)
K^+	10.45
Na^+	479.32
Ca^{2+}	10.53
Mg^{2+}	54.39
SO_4^{-2}	28.89
Cl^-	559.50
pH	8.22

The initial conditions of simulation using the GEODELING have as its starting point the combination of the chemical species. The new concentration is calculated and represented by the logarithm activity of ionic species. The activity concentration also known as "effective", used to eliminate the effect of the interaction between the ions in solution. The method uses GEODELING: Debye-Hueckel, B-dot, Pitzer, and Davies (Kehew, 2001).

RESULTS AND DISCUSSIONS

Events predicted by numeric simulation between 25 and 160°C using GWB™, PHREEQC™ in comparison to GEODELING, are summarized in Figure 1. Analyzing the graphs of simulations we observed two significant moments: i) events at lower temperatures (25-100°C) and events at high temperatures (120-160°C). The logarithm of the activity of ions depends on the temperature of the reaction system. At low temperatures, we observe that the software acquire similar behavior. At higher temperatures, the software's numerical method attributes unique characteristics and causing discrepancies in the

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

results. When comparing the results of GEODELING with other software, we observed similarity in low-temperature events. For the speciation of the ions Mg^{2+}, Ca^{2+}, K^{+} and SO_4^{2-} the GEODELING reproduces the logarithm of the activity of these ions. On the other hand, the ions Cl^{-} and Na^{+} have different behavior for high temperatures when compared with software GWB™ and PHREEQC™.

Geochemical speciation is critical for understanding the form of chemicals of interest in natural systems. It is crucial in assessing bioavailability and, ultimately, fate, transport, and risk to humans and ecosystems. Chemical speciation measures through analytical methods the amount of free ion or total concentration, used in conjunction with thermodynamically based models.

To this end, the GEODELING code itself was built to predict the species present in a geological environment. The various simulations in this study enabled a comparative study of GEODELING behavior with commercial software speciation. The results showed that the use of different codes produces different results during modeling for two events of temperature. The convergence of outcomes is more evident at low temperature than between high temperatures. Generally, at low temperatures, the simulation results show the same behavior, because each software uses similar numerical methods to solve a different set of reactions.

At low temperatures (T<100°C), it is possible to observe similarity among the results of the various codes due to the low kinetic energy involved in the reactions. Each simulator has their algorithms based on numeric methods that are dependent on kinetic and thermodynamic parameters, contained in the database. In higher temperature reactions (120 – 160°C), the kinetic energy increases and generate discrepant results, regardless of the model. Consequently, the GEODELING system produces different results in ions chloride and sodium. However, GWB™ and PHREEQC™ have same approaches while working with high temperatures when compared to the GEODELING. This behavior was observed in ions magnesium and calcium. In general, from 120°C GWB™ and PHREEQC™ reproduce the similar behavior. The numerical method of both systems uses polynomial equations of 8th grade to resolve the physical-chemical interactions in geological environments.

These equations are dependent on kinetic, and thermodynamic data are directly affecting the reaction medium. For temperatures above 120°C, these kinetic and thermodynamic data acquire an anomalous behavior, assuming constant values of 500 in numeric treatment. If the software finds the 500 value, indicate that that value has not been calculated.

This comparative study revealed two events, taking into account the temperature. The first stage corresponds to the temperature range 25–100°C and the second to the temperature range of 120-160 °C. In the first stage is possible to verify the convergence of the results. In the second stage, we can confirm a peculiarity due to the numerical method. Users must be careful when choosing a geochemical speciation software because, depending on the temperature range, different systems can produce very discrepant behaviors.

CONCLUSIONS

The present study of geochemical speciation comparing the application of GWB™ and PHREEQC™ with GEODELING codes for the simulation of water formation resulted in the following conclusions:

a) Reactions at low temperatures (25 to 100°C) with different simulators reproduce quite the same behaviors. In this temperature range, which involves low energy, the reaction kinetics, and the thermodynamic parameters behave according to the particularities of each code. The numerical methods used by GWB™, PHREEQC™ and GEODELING code can achieve only limited convergence of results, with the high precision expected for reactions at low-temperature geological environments.

b) The range of temperature from 120 to 160°C (which as a higher kinetic energy involved and greater intensity in the reactions) the simulations with all the four software generate different results. The reason for that is that they use different mass balance equations for calculation chemical speciation.

The mathematical interpolations used by simulators in this temperature range are less stable giving rise to a lower convergence of results. In this way, each simulator seeks each own best set of numerical solutions to achieve the equilibrium.

The geochemical speciation aimed to compare the results of simulators able to predict the chemical species present in a geological environment. The utilization of GEODELING allows comparing the results with software GWB™ and PHREEQC™ with a high degree of acceptance for low

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

temperatures. Soon to high temperatures, we need to be cautious in their use. With the temperature information, the user should do a preliminary study with the available codes for verifying the convergence.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors acknowledge the Brazilian agencies CNPq (National Counsel of Technological and Scientific Development – Brasília, DF, Brazil), CAPES (Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel) for the research funding, and the generous assistance of all the people from the company who granted us access to their database and perception information.

REFERENCES

1. Baccar M.B.; Fritz B. Geochemical modeling of sandstone diagenesis and its consequences on the evolution of porosity. Applied Geochemistry. **1993**, 8, 285-295.

2. Bethke C.M. The Geochemists Workbench Version 4.0: A User's Guide. University of Illinois, Urbana, IL. 2008, 224.

3. Dale, Nell B. Programming and problem solving with C++: Jones Bartlett Publishers, **2004**, 1068.

4. Garrels, R.M.; Mackenzie, F.T. Origin of the chemical compositions of some springs and lakes. Equilibrium Concepts in Natural Water Systems, Am. Chem. Soc. Adv. Chem. Ser. **1967**, 67, 222-242.

5. Batley, G. E.; Francesconi, K, A.; Maher, W. A. The role of speciation in environmental chemistry and the case for quality criteria. Environ. Chem. **2009**, 6, 273-274.

6. Gianguzza, A.; Piazzese D. Speciation of low molecular weight carboxylic ligands: protonation constants and association with major components of seawater of oxydiacetic and citric acids. Anal. Chim. Acta. **1999**, 398, 103-110.

7. Gianguzza, A.; Piazzese, D. Inorganic Speciation of Organotin(IV) cations in natural waters with particular reference to seawater. Chem. Spec. Bioavailab. **2000**, 12(2), 41-52.

8. Gianguzza, A. et al. Speciation of trialkyltin (IV) cations in natural fluids. Mar. Chem. **2004**, 85, 157-167.

9. Helgeson, H.C. Thermodynamics of complex dissociation in aqueous solutions at. elevated temperatures. J. Phys. Chem. **1967a**, 71, 3121-3136.

10. Helgeson, H.C. Solution chemistry and metamorphism. In Researches in Geochemistry, (editor P. H. Abelson). **1967b**, II, 362-404.

11. Helgeson, H.C.; James W. R. Activity coefficients in concentrated electrolyte solutions of elevated temperatures, an abstract: Abstract of Papers, 155th, Natl. Meeting, Amer. Chem. Soc. **1968**, San Francisco, California, S-130.

12. Kehew, A.E. Applied Chemical Hydrogeology. **2001**, 368.

13. Morad, S.; Bergan, M.; Knarud, R.; Nystuen, J. P. Albitization of detrital plagioclase in Triassic reservoir sandstones from the Snorre field, Norwegian north sea. J. Sediment. Petrol. **1990**, 60, 411-425.

14. Nordstrom, D.K. On the evaluation and application of geochemical models, Appendix 2 in Proceedings of the 5th CEC Natural Analogue Working Group and Alligator Rivers Analogue Project, an international workshop held in Toledo, Spain, October 5-19, **1992**, EUR 15176 EN, p. 375-385.

15. Parkhurst, D.L.; Appelo, C.A.J. User's guide to PHREEQC-a computer program for speciation, batch-reaction, one-dimensional transport, and inverse geochemical calculations. Water-Resources Investigations Report 99-4259. Reston, Virginia: U.S. Geological Survey, **1999**, 312.

16. Parkhurst, D.L.; Plummer, L.N. Geochemical models. In: ALLEY, W. M. Regional ground-water quality. New York: Van Nostrand Reinhold, **1993**, 199-225.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

17. Pitzer, K.S. Theory Ion interaction approach: in R.M. Pytkowitcz, ed., Activity Coefficients in Electrolyte Solutions, vol. 1, CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida. **1979**, 157-208.

18. Pitzer, K.S. Activity coefficients in electrolyte solutions (2nd ed.). C.R, C. Pitzer, K.S. Ion interaction approach: theory and data correlation. **1991**, 75-153.

19. Plummer, L.N. Geochemical modeling: A comparison of forward and inverse methods. In: Canadian/American conference on hydrogeology: practical applications of groundwater geochemistry, Banff, Alberta, Canada, **1984**.

20. Plummer, L.N., Prestemon E.C., Parkhurst D.L. An interactive code (NETPATH) for modeling net geochemical reactions along a flow path Version 2.0. Water-Resources Investigations Report. Reston, Virginia: U.S. Geological Survey. **1994**, 94-4169.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

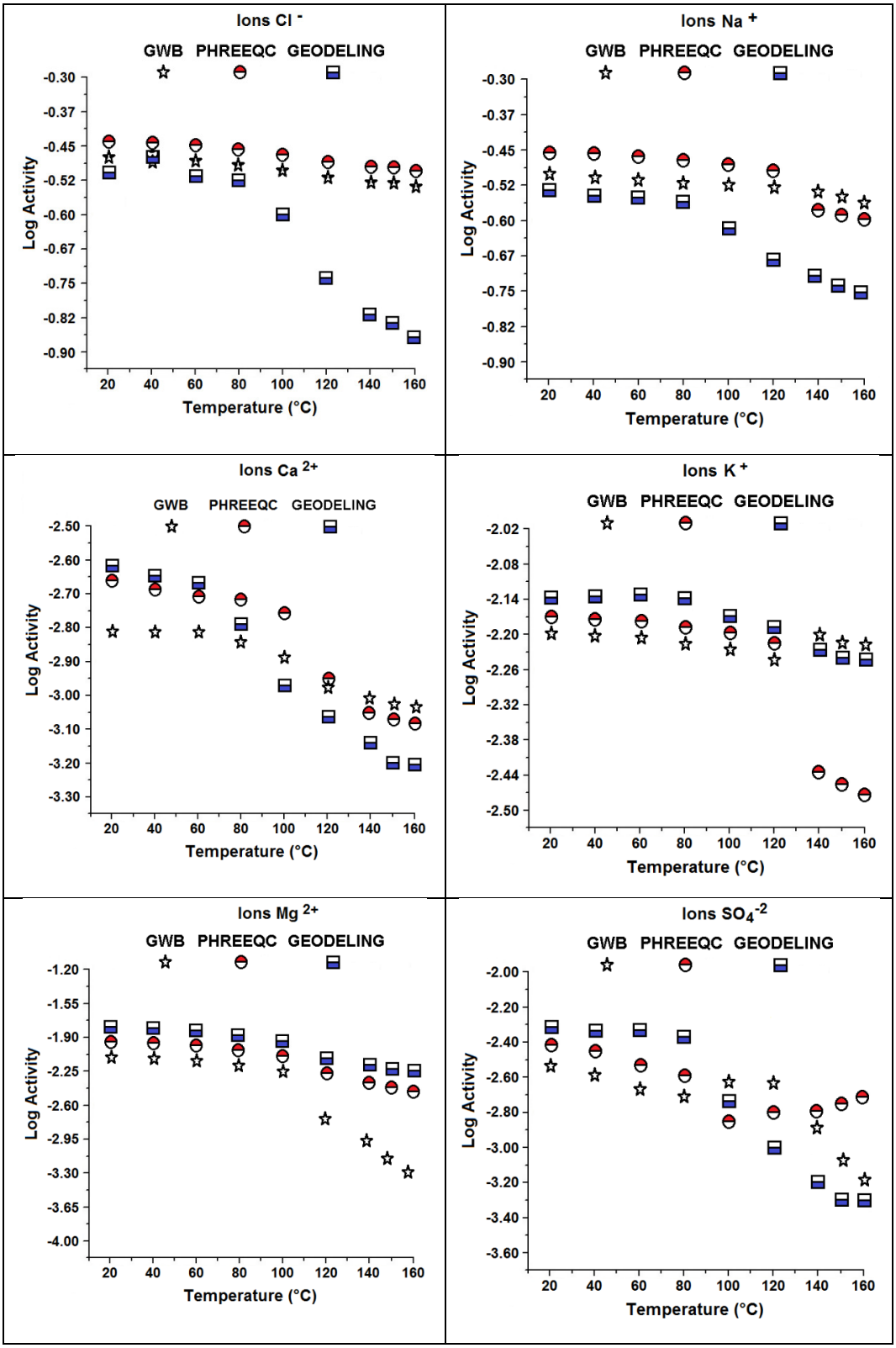


Figure 1: *Speciation model using GWB, PHREEQC and GEODELING*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTER-RELAÇÃO ENTRE A ESTABILIDADE PSICOEMOCIONAL E A FORÇA OU A FRAQUEZA DO SISTEMA NERVOSO NO ASPECTO DA OCUPAÇÃO PROFISSIONAL DE OPERADORES DE PRODUÇÃO CONTÍNUA DE FIBRA DE VIDRO

INTERRELATION OF PSYCHOEMOTIONAL STABILITY AND STRENGTH OR WEAKNESS OF NERVOUS SYSTEM IN THE ASPECT OF PROFESSIONAL OCCUPATION OF GLASS FIBER CONTINUOUS PRODUCTION OPERATORS

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ И СИЛЫ-СЛАБОСТИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ В СТРУКТУРЕ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ОПЕРАТОРОВ ПОЛУЧЕНИЯ НЕПРЕРЫВНОГО СТЕКЛОВОЛОКНА

MAKAROVA, Oksana A.[1*]; MINAKHMETOVA, Albina Z.[2]; PYANOVA, Ekaterina N.[3]; PANFILOV, Alexey N.[4]; SHAGIVALEEVA, Guzalia R.[5]

[1,2,3,4,5] Kazan Federal University, Department of Psychology, 89 Kazanskaya Str., zip code 423600, Yelabuga – Russian Federation
(phone: 89600663566)

** Corresponding author*
e-mail: gavrily.oksana@mail.ru

Received 26 October 2018; received in revised form 28 December 2018; accepted 31 December 2018

RESUMO

Aspectos teóricos de estudos de estabilidade psicoemocional e tipos de sistema nervoso e sua manifestação no aspecto da ocupação do operador são descritos no presente artigo. A análise dos resultados do estudo professiográfico foi realizada. O estudo incluiu os empregados (operadores de produção contínua de fibra de vidro) da fábrica de fibra de vidro "P-D Tatneft-Alabuga Steklovolokno, Llc". Os critérios de sucesso profissional do operador foram descritos. Eles incluíram forte tipo de sistema nervoso e foram associados altos níveis de estabilidade psicoemocional durante o processo de produção tecnológica. Especial atenção foi dada aos resultados de estudos empíricos sobre a interconexão de estabilidade psicoemocional e tipos de sistemas nervosos em operadores "mais bem-sucedidos" de produção contínua de fibra de vidro e "menos bem-sucedidos". Diferenças estatísticas nos parâmetros estudados, dependendo do grau de sucesso profissional dos entrevistados, foram obtidas durante a análise de correlação que revelou um tipo de sistema nervoso mais forte e alto nível de estabilidade psicoemocional em operadores "mais bem-sucedidos" e um tipo de sistema nervoso significativamente mais fraco e menor estabilidade em "operadoras de menor sucesso".

Palavras-chave: *operadores de produção contínua de fibra de vidro, estabilidade psicoemocional, sistema nervoso.*

ABSTRACT

Theoretical aspects of psychoemotional stability studies and types of nervous system and their manifestation in the aspect of operator occupation are described in the present article. The analysis of the professiographic study results was performed. The study included the employees (glass fiber continuous production operators) of the glass fiber manufacturing plant "P-D Tatneft-Alabuga Steklovolokno, Llc". The criteria of operator professional success were described. They included strong type of nervous system and were associated high psychoemotional stability levels during technological production process. Special attention was paid to the results of empirical studies on interconnection of psychoemotional stability and nervous system types in "more successful" and "less successful" glass fiber continuous production operators. Statistical differences in the studied parameters, depending on the degree of respondents professional success, were obtained during correlation analysis that revealed stronger nervous system type and high level of psychoemotional stability in "more successful" operators and significantly weaker nervous system type and lower stability in "less successful" operators.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Keywords: *glass fiber continuous production operators, psychoemotional stability, nervous system.*

АННОТАЦИЯ

В статье рассматриваются теоретические аспекты изучения психоэмоциональной устойчивости и типа нервной системы и их проявления в структуре операторского труда. Представлен анализ результатов профессиографического исследования, в котором приняли участие сотрудники предприятия по производству стекловолокна ООО "П-Д Татнефть-Алабуга Стекловолокно" (операторы получения непрерывного стекловолокна). Описаны критерии успешности в профессиональной деятельности оператора, среди которых можно выделить сильный тип нервной системы и обусловленный им высокий уровень психоэмоциональной устойчивости в условиях производственно-технологического процесса. Особое внимание уделено результатам эмпирического исследования взаимосвязи показателей психоэмоциональной устойчивости и типа нервной системы у "более успешных" и "менее успешных" операторов получения непрерывного стекловолокна. Также приводятся статистические различия по исследуемым показателям в зависимости от степени успешности респондентов в профессиональной деятельности, данные были получены в ходе корреляционного анализа, который показал наличие сильного типа нервной системы и высокого уровня психоэмоциональной устойчивости у "более успешных" операторов и значительно более низкие проявления силы нервной системы и устойчивости у "менее успешных" операторов.

Ключевые слова: *оператор получения непрерывного стекловолокна, психоэмоциональная устойчивость, нервная система.*

INTRODUCTION

As technological progress becomes the main factor of human activity efficiency, closer attention is paid to different spheres of conveyor-based production and industrial labor. In such conditions, human personality should be addressed as well. In modern psychology, human factor attracts researchers interest in some understudies occupations, like glass fiber continuous production operator (GFCP operator). According to the Standard Wage-Rates and Skills Reference Book (SWRSRB), GFCP operator is responsible for technological process of glass fiber continuous production, instrumental or visual equipment adjustment, equipment mode set up, start and lock down of technological line equipment, glass fiber drawing technological failures handling and regulation of such technological parameters as drawing rate, level and temperature in tanks (Unified rating and skills…, 2014).

This occupation is characterized by high psychic and emotional tension and heavy load on sensor systems (eyesight, hearing). These conditions set serious requirements to psychological characteristics of an operator, in particular, to their psychoemotional stability and nervous system type, that were investigated in the present study.

LITERATURE REVIEW

2.1. Psychoemotional stability in the aspect of professional occupation

Psychoemotional stability (emotional-volitional stability, psychological stability) is often studied in such spheres as pedagogical activities (Baitukbaeva, 2014), welfare activities (Kazakhova, 2008), emergency service (Morozova and Kuflina, 2015), law enforcement activities (Fisher, 2014; Valeeva and Khairullova, 2013), power supply service (Gavrysch *et al.*, 2008), aviation, i.e. those types of human activities that are associated with human-related or equipment-related stress situations. Operator activity can be classified as socio-technical, because it is based on technological process handling and involves social interaction with the workshop colleagues. GFCP operator activity can be seen as operator-supervisor, operator-performer, operator-technologist, etc. Within each of these roles, an operator has to demonstrate psychoemotional stability and concentration on the object of labor under different distracting conditions.

Psychoemotional stability is defined as an integral personality characteristic that provides its resistance to frustrating and stress-producing factors, i.e. ability to maintain optimal mental

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

functioning under changing conditions or under stress. This personal attribute is not inherited genetically, but develops together with personality formation. Personality behaviour, characterized by high level of psychoemotional stability, follows a specific algorithm: objective setting, motive actualization and objective realization. Further, an individual understands the difficulties that arise during objective realization, which provokes negative emotional response. After that, an individual looks for ways to overcome these difficulties, which, in its turn, leads to reduction of negative emotions and improvement of performance efficiency.

In cases when a personality is characterized by psychoemotional instability, a different algorithm of behaviour is observed: difficulties provoke negative emotional response that leads to chaotic search for solutions and, as a result, to intensification of negative emotions, worsening of performance and drop of motivation.

Difficult situations can be excluded neither from professional activity, nor from life in general. Any professional has to be ready to face them. However, it is important to set the tasks that meet operators capabilities and to work at the improvement of their psychoemotional stability. This issue requires understanding of this psychic phenomenon nature and character.

A number of researchers believe that inadequate and psychoemotional status is the main reason for wrong judgement at making decisions. Emotional instability in humans can often lead to fatal human errors. Overexcitement and surge of emotion are associated with the feelings towards the situation and expectation of possible uncorrectable results of their wrong solutions, which, in its turn, increases the risk of errors. Thus, psychological tension, caused by a number of circumstances associated with professional activity, leads to hastiness or slowness of reactions, which is unacceptable at equipment failure or suddenly changing situation (Mamaev *et al.*, 2017).

It should be noted that psychoemotional stability (emotional-volitional stability, psychological stability) is an obligatory criterion of professional and psychological selection of the applicants for operator position (Kuzmenko, 2013).

It is known that high level of psychoemotional stability of a professional provides capability of adequate analysis of conditions, planning and performance, which relatively levels the influence of external and internal conditions on the specialist performance efficiency. H. Bless and J.P. Forgas proved that such abilities were connected not only with psychoemotional stability, but also with the specialist age and level of qualification (Bless and Forgas, 2011). It can be suggested that psychoemotional stability is formed within the lifetime and labor activity. Thus, if a specialist professional activity is associated with techniques and skills formation, that are defined as psychological regulatory capabilities, in particular, adequate professional situations handling, forecasting, planning and ability to be flexible, a specialist psychoemotional stability will increase along with the mentioned skills improvement. In this case, the described psychological phenomenon can be associated with a specialist professional success.

2.2. Nervous system type in the aspect of professional activity

It should be mentioned that psychoemotional stability depends on the type of nervous system (which is an inborn attribute), person's life experience, skills, level of professional training, social interaction skills, type of activity, etc. According to L.M. Abolin, external conditions of emotional stability-instability include emotional-physiological reactivity, nervous system properties and acquired during lifetime emotional qualities (Abolin, 1987). The issue on mutual influence of nervous system and emotional stability were investigated also by K.M. Gurevich (Gurevich, 1970). In this case, the authors are interested in one of the main factors that influence on operator activity – weakness or strength of nervous system and its interconnection with psychoemotional stability in the aspect of GFCP operator profession.

Nervous system attributes are crucial for many different professionals, including operators. V.F. Matveev, in his description of operators-managers of power supply systems, mentions that "operator's qualities", that enable specialists deal with their work in emergency situations, are more expressed in people with strong nervous system. People with weak nervous system proved to be unsuccessful. They demonstrated perplexity close to shock, which led to increased amount of inadequate decisions and errors.

Psychological tension can be caused by different reasons in numerous professional

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

activities (adjusting engineers with weak nervous system sweat during equipment downtime, they get disorganized by master's shouting) (Matveev, 1966). Public transport drivers constantly face emergency situations as a background. The studies performed by V.A. Troshikhina, S.I. Moldavskaya and I.V. Kolchenko showed that after five-year professional experience, the highest reliability was shown by the drivers with high flexibility of nervous system and strong nervous system. The drivers, who have highly inert nervous processes, are careful and comparatively rarer break traffic rules, but still they get into traffic accidents more often. The mostly reliable drivers are those who have strong nervous system and average degree of nervous processes flexibility (Troshikhin *et al*., 1978).

The studies on the rate of different car accidents, conducted by S.A. Gaponova, showed that there were equal amounts of drivers in both groups (accident-free group and accidents group). The author explained this by the fact that drivers from the first group were characterized by such qualities as emotional stability, interference stability, concentration and attention switch; and the second group was characterized by high capability of probabilistic forecasting, nervous processes flexibility, high throughput capacity of visual sensory system, long-term (Gaponova, 1983). There are publications on fire-fighters successful performance under extreme conditions that is associated with tendency towards risk-taking. It is mentioned that it is mostly expressed in patients with strong nervous system.

The study of typological peculiarities in radio telegraphist and telephone operator specialists, conducted by V.A. Troshikhin *et al*., showed that the specialists with high flexibility of nervous processes and strong nervous system the most successful in profession acquiring. People with inert nervous processes and weak nervous system are not suitable for these professions (Troshikhin *et al*., 1978). V. G. Zakharin contributed to the investigation of this issue and indicated on the fact that massaging rate of radio telegraphists depended on the degree of nervous system lability. "Specific difficulty for inert specialists is the demand to make quick repeated hand movements" (Zakharin, 1976).

N. A. Besstrashnaya studied typological peculiarities of typewriter successful performance. According to the author, this profession requires abilities to coordinate quick movements, endurance for continuous quick typing and fast attention switch from one object to another. It was revealed that "people who successfully trained for this profession had high flexibility of nervous processes and high performance efficiency in tapping test" (Besstraschnaya, 1982; Ilyina, 2001).

Nervous system strength and emotional stability, as well as the reaction to a moving object, readiness for risk-taking is seen as a factor of young drivers reliability (Ljdokova *et al*., 2014).

The described examples show that people with strong nervous system and high psychoemotional stability are more successful in coping with extreme situations as compared to people who do not demonstrate these abilities. Weak nervous system is characterized by low stability to continuous neuropsychic impact on psychic and can be taken as a contraindication to operator (Sarychev, 2009).

The authors defined the criteria of GFCP operator professional successfulness. They included personal attributes that depend on inborn and acquired psychophysical peculiarities, for example, qualities that are important for operator successful performance. Based on the peculiarities of glass fiber continuous two-stage technological processes, GFCP operator should possess the following personal and psychophysiological characteristics: quick attention switch, stress stability, concentration, tendency to monotonia, positive attitude to repetitive work, high movement coordination, high reaction rate, good adaptive capabilities, psychoemotional stability, communication skills, vast volume of operational memory, absolute performance accurateness, quick information processing, movements rate, strong type of nervous system, tendency towards physical labor, high working capacity, personal responsibility in technological system handling, positive professional inner motivation and satisfaction with the labor. The ranging of these characteristics by the plants specialists (masters, senior masters, technologists, labor specialists, HR specialists) showed that psychoemotional stability and strength of nervous system were among the five most important characteristics (Makarova *et al*., 2016).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

METHODOLOGICAL FRAMEWORK:

The study of nervous system interconnection with psychoemotional stability depending on the professional successfulness included 64 GFCP operators. The group of respondents consisted of employees of "P-D Tatneft-Alabuga Steklovolokno, Llc" aged from 22 to 43 years old. The respondents were males only due to peculiarities of this occupation. 10% of the respondedts had general secondary education, the majority (56 %) of the respondents had specialized secondary education and 34% had higher education. Labour experience of the employees varied from 7 month to 8 years.

According to the objectives of the empyrical studies, two groups of operators were formed. The first sampling included the operators that were relatively "more successful", i.e. had better professional performance and better productivity parameters according to the operators self-evaluation. Questionnaire on GFCP operator successful performance evaluation, developed based on the analysis of production documentation and masters advice, was used. The conducted survey included such parameters as out-turn, operating time, operator performance accuracy and bonus payments. Thus, the sampling of "more successful" operators included 32 respondents aged from 24 to 39.

The second sampling included "less successful" operators that had lower parameters of professional performance as compared to the first sampling. This sampling also included 32 operators aged from 22 to 43. Operators from each group were tested by E.P. Ilyin "Tapping test" in Y.A. Tsagarelli modification and the method of psychoemotional stability diagnostics ("Activatiometr AT-9K").

RESULTS AND DISCUSSION:

Express-diagnostics of psychoemotional stability included observation at the operators reactions to real or imitated stressor in modelled situations. The software registered the parameters of psychoemotional stability at the moment of maximal stressor influence on the testees. Further, the parameters of stress-induced and background psychoemotional state were compared and the diagnosis was made based on the difference. The summed results on psychoemotional stability in GFCP operators are presented in Table 1.

The results of psychoemotional stability diagnostics showed that low and below average parameter values were not presented in operators samplings, average values were registered only in 6% of "less successful" operators. Only 6% of operators had perfect psychoemotional stability in this group, and the majority of testees (88%) had high level of psychoemotional stability. In the sampling of "more successful" operators the parameter values distributed between perfect or very high (53%) and high (47%) levels of psychoemotional stability. It should be mentioned that in the first sampling the parameter values were higher than in the second sampling. The results indicate on the importance of stress stability to psychological stresses and physical overloads in operator occupation. That is why, low values were not revealed among the testees. However, the majority of more successful operators had perfect psychoemotional stability.

The next stage of the study included qualitative and quantitative analysis of the testees results on strenth or weakness of nervous system diagnostics, obtained by the instrumental varient of E.P. Ilyin "Tapping test" in modification of Y.A. Tsigarelli ("Activatiometr AT-9K"). Results distribution of the parameter values in "more" or "less" successful operators.

As it can be seen from Table 2, the strength of nervous system was better in "more successful" operators (21%) than in "less successful" operators (9%), and weakness of nervous system, in its turn, was more expressed in "less successful" operators (81%). Strong nervous system was one of the most important requirements in operator occupation. Naturally, those operators, that have stronger nervous system, are more successful in their work performance.

The conducted study allowed to establish the interrelation between psychoemotional stability and nervous system type in GFCP operators, which is confirmed by the results, obtained by other researchers in their studies on a number of technical professions. Pearson correlation coefficient between the studied parameters of "more successful" operators was 0.8, which indicates on very close correlation between the level of psychoemotional stability and strength or weakness of nervous system. This correlation was statistically significant at $p \leq 0.01$. Thus, stronger nervous system in "more successful" operators correlated with higher

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

psychoemotional stability and vice versa. Both characteristics allow operators to tolerate high physical and psychological loads and maintain "sober mind", i.e. act flawlessly and make decisions instantly under changing conditions.

In the group of "less successful" operators Pearson correlation coefficient was 0.6, which indicates on very close correlation between the level of psychoemotional stability and strength or weakness of nervous system. This correlation was statistically significant at $p \leq 0.01$. Thus, "less successful" operators had weaker nervous system and low psychoemotional stability.

It should be mentioned that there were some differences between operators groups. Mathematical analysis of the obtained data on psychoemotional stability by Mann–Whitney U test showed that Uemp coefficient was 172, which indicated on statistically significant difference at $p \leq 0.01$. Respectively, in the group of "more successful" operators the parameters of stability to emotiogenic stressors wee better, so these operators tolerated different emotional loads easier. In the group of "less successful" operators the level of psychoemotional stability was lower. Insufficient level of mental flexibility at tasks switching was observed. An increased risk of somatic diseases development is probable, because such individuals are more stress prone. Such employees have to change their attitude to the surrounding situation. Probably, negative emotions slowed down professional productivity in the studied group.

Mathematical analysis of the obtained data on nervous system type showed that Uemp coefficient was 361.5, i.e. there were differences in nervous system type ($p \leq 0.05$). Thus, nervous system parameters were better in "more successful" operators, i.e. they were characterized by higher level of stability, better working capability and tolerance to different distractions. "Less successful" operators were characterized by low working capability of nervous cells that quickly wears out. Because of small reserve of energy and increased fatigability, such operators become less resistant to monotonia and professional stress, which can complicate their success in operators occupation.

CONCLUSIONS:

The conducted empirical study results showed that high psychoemotional stability and strong nervous system were very important in the aspect of GFCP operator professional performance. It should be noted that there was close correlation between the studied parameters regardless of the operator successfulness level. High psychoemotional stability and strong nervous system are defined as psychophysiological characteristics that are necessary for operator occupation. The obtained results indicate on higher expression of these characteristics in "more successful" GFCP operators than in "less successful" operators. Thus, psychoemotional stability and strength of nervous system can be considered as necessary psychological conditions for successful operator professional performance.

Operators are influenced by stress, overloads, inner tension, over fatigue and labor monotony. Negative impact of such factors can influence on the level of psychosomatic health. The results of the study defined psychological requisites of successful operator professional performance that could be used at professional and psychological staff selection. It should be noted that some characteristics of human psychic can adapt to unfavorable factors, significantly increasing psychoemotional stability, which proves that this capability can be developed. Probably, "more successful" operators, that also had longer work experience in the respective conditions, managed to raise the level of their stability to these conditions.

REFERENCES:

1. Abolin, L.M. *Psychological mechanisms of an emotional stability of a man,* Kazan: Publishing house of Kazan University, 1987.
2. Baytykabaeva, B.D. *Science and Modernity,* **2014**, *27*, 86–98.
3. Besstraschnaya, N.A. *Role of the individual psychophysiological needs of adults in the successfulness of the typist profession mastering,* Perm: All-Union Symposium, 1982.
4. Bless, H., Forgas, J.P. *The Message Within: Toward a Social Psychology of Subjective Experiences,* New York: Psychology Press, 2011.
5. Fisher, I.V. *Scientific-Methodological Electronic Journal "Konzept",* **2014**, *20*, 2746–2750.
6. Gaponova, S.A. Complex evaluation of the psychophysiological professional eligibility of

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

the cars' drivers, Horkyi: Volgograd State Technical University, 1983.

7. Gavrysch, N.N., Zuev, V.G., Pochodzey, L.V., Rubtzova N.B., Pal'tzev, Yu.P. *Hygiene and Sanitation,* **2008**, *5*, 47–50.

8. Gurevich, K.M. *Professional availability and basic capacity of the nervous system,* Moscow: Nauka, 1970.

9. Ilyina, E.P. Methodology of the express-diagnostics of the capacities of the nervous system according to the psychomotor indexes, 2001. Available at: https://studfiles.net/preview/3190924/

10. Kazakhova, O.A. *Herald of the Samara National University*, **2008**, *64.1*, 119–126.

11. Kuzmenko, M.D. *Vector of the Science of the Tolyatti State University. Series: Pedagogy and Psychology,* **2013**, *1(12)*, 125–128.

12. Ljdokova, G.M., Talysheva, I.A., Gaifullina, N.G. *Life Science Journal*, **2014**, *11(10)*, 694–696.

13. Makarova, O.A., Pianova, E.N., Panfilov, A.N., Minakhmetova, A.Z. *Journal of Language and Literature*, **2016**, *7(2)*, 364–370.

14. Mamaev, V.V, Rozanova, E.N., Dickenstein, I.F. *Research Institute of the Mine Rescue Work Respirator*, **2017**, *4(54)*, 82–91.

15. Matveev, V.F. *Typological Peculiarities of the Higher Nervous Function,* **1965**, *4*, 34–59.

16. Morozova, L.B., Kuflina, V.A. *Scientific-Methodological Electronic Journal "Conzept"*, **2015**, *13*, 2821–2825.

17. Sarychev, A.S. *Ecology of a Man*, **2009**, *12*, 17–21.

18. Troshikhin, V.A., Moldavskaya, S.I., Kolchenko, N.V. *Functional mobility of the Nervous Processes and Professional Selection,* Kyiv: Naukova dumka, 1978.

19. *Unified rating and skills guide for jobs and occupations of manual workers (URSG)*, 2014. Available at: http://bizlog.ru/etks/etks-28/102.htm.

20. Valeeva, N.S., Khairullova E.T. *Herald of the Kazakh Technological University*, **2013**, *23(16)*, 300–304.

21. Zakharin, V.H. *New Researches in the Psychology,* **1976**, *2(10)*, 38–42.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 1. *The results of psychoemotional stability diagnostics in GFCP operators*

Psychoemotional stability evaluation	"More successful" operators	"Less successful" operators
Perfect	17 (53 %)	2 (6%)
High	15 (47%)	28 (88%)
Average	0 (0%)	2 (6%)
Below average	0 (0%)	0 (0%)
Low	0 (0%)	0 (0%)

Table 2. *Strenth or weakness of nervous system diagnostics in GFCP operators*

Diagnosed parameters	Degree of parameter expession	"More successful" operators	"Less successful" operators
Nervous system strength	Low expression	1 (3%)	3 (9%)
	High expression	1 (3%)	0 (0%)
	Very high expression	6 (19%)	0 (0%)
Average nervous system		5(16%)	3 (9%)
Nervous system weakness	Low expression	9 (28%)	0 (0%)
	Average expression	6 (19%)	7 (22%)
	High expression	3 (9%)	11 (34%)
	Very high expression	1 (3%)	8 (25%)

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

SUCESSO REPRODUTIVO DE CURICACA (*Theristicus caudatus*) (PELECANIFORMES: THRESKIORNITHIDAE) NO PLANALTO DAS ARAUCÁRIAS, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL.

BREEDING SUCCESS OF BUFF-NECKED IBIS (*Theristicus caudatus*) (PELECANIFORMES: THRESKIORNITHIDAE) IN ARAUCARIA PLATEAU, RIO GRANDE DO SUL, BRAZIL.

DAL CORNO, Renata De Boni[1,2*]; AVER, Gustavo Francisco[3]; PETRY, Maria Virginia[4];

[1] Universidade de Caxias do Sul, Área das Ciências da Vida, Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130. Petrópolis. cep 95070-560 – Caxias do Sul – RS, Brasil
(fone:+55 54 3218 2100)

[2,3,4] Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Programa de Pós Graduação em Biologia, Av. Unisinos, 950. Cristo Rei. Cep 93020-190 – São Leopoldo – RS, Brasil
(fone: +55 51 3591 1122)
** Autor correspondente*
e-mail: renatadbdc@gmail.com

Received 02 November 2020; received in revised form 16 November 2018; accepted 31 December 2018

RESUMO

A história de vida de uma espécie pode ser considerada a principal fonte de informações acerca desta, parâmetros como comportamento de corte, período de incubação, número de ovos e filhotes, podem representar a aptidão dos indivíduos em relação ao meio, alterado ou não. Dessa maneira ao se obter informações do sucesso reprodutivo de uma espécie é possível avaliar a relação dos indivíduos com as modificações do ambiente. A Curicaca, (*Theristicus caudatus*) ocupa preferencialmente áreas secas campestres e utilizam áreas de cultivo como sítios de alimentação. Dentro da família Threskiornithidae, é considerada a espécie mais adaptável às perturbações ambientais e por isso ela pode ocupar diversos ambientes, inclusive antropizados, nidificando próximo a residências, e até em torres de transmissão. Este trabalho teve como objetivo avaliar o sucesso reprodutivo de três diferentes populações de Theristicus caudatus nos Campos de Cima da Serra. Foram acompanhados na estação reprodutiva de 2011, três locais de nidificação nas cidades de Bom Jesus (A e C) e São José dos Ausentes (B), que possuíam características ambientais diferentes entre si. Utilizaram-se três métodos para determinação do sucesso reprodutivo: o sucesso aparente, a taxa de eclosão dos ovos e o protocolo de Mayfield (1961,1975), considerando as modificações sugeridas por Hensler & Nichols (1981). Nas 600 horas de observação durante período reprodutivo, evidenciou-se uma média de 1,87 ± 0,74 ovos por ninho. O sucesso aparente e o protocolo de Mayfield apresentaram diferenças proporcionais entre os grupos, sendo o grupo B o que obteve maior sucesso reprodutivo, seguido por C e A. O ambiente onde os indivíduos do grupo B se encontravam pode ser considerado um meio termo entre as características dos outros grupos, possuindo características antrópicas que afastam predadores dos ninhos e das áreas de alimentação, enquanto os locais de alimentação têm reduzida influencia externa.

Palavras-chave: *reprodução, ornitologia, comportamento, aves.*

ABSTRACT

The life history of a species can be considered the main source of information about it, parameters such as incubation period, number of eggs and chicks, may represent the aptitude of individuals in relation to the environment, modified or not. Thus information from the reproductive success of a species allows evaluating the relationship of individuals to environmental changes. This study aimed to assess the reproductive success of three different populations of Buff-necked ibis, *Theristicus caudatus*, in Araucaria Plateau. The groups were followed in the reproductive season of 2011, three breeding which had environmental characteristics different from each other. We used three methods to determine the reproductive success: apparent success, hatching rate of eggs and protocol of Mayfield. In 600 hours of observation during the reproductive period, approximately 200 hours for each group, there was an average of 1.87 ± 0.74 eggs per nest. The apparent success and the

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

protocol of Mayfield showed proportional differences between the groups. The environment where individuals were nesting in group B can be considered a compromise between the characteristics of other groups, with anthropogenic characteristics that draw predators away from nests and feeding areas, while feeding sites has reduced external influences.

Keywords: *breeding, ornithology, behavior, birds*.

INTRODUCTION

The Buff-necked ibis, *Theristicus caudatus* (Boddaert, 1783), belongs to Pelecaniform Order and occurs in South America, distributed from Colombia to Tierra del Fuego. In Brazil these birds occupy countryside areas like the Cerrado, croplands and humid fields (Hancock *et al*. 1992), and its diet consists of arthropods, soil invertebrates and some small vertebrates such as frogs and lizards (Scherer-Neto, 1982; Matheu and Del Hoyo, 1992; Belton, 1994; Sick, 1997).

Within the family of Threskiornithidae, the Buff-necked ibis is considered the most adaptable species to disturbances, which may occupy many environments, including anthropogenic locations, nesting close to residences, and even transmission towers (Olive, 2008), resulting in a higher abundance of individuals. However, even abundant, this species has few studies on its ecology and biology (Scherer-Neto, 1982; Matheu and Del Hoyo, 1992; Hancock *et al*. 1992; Lorenzetto *et al*. 2003; *Lorenzetto et al.* 2004; Oliveira, 2008).

The understanding of the ecological patterns of the species is a limiting factor for developing appropriate conservation and management strategies, both for wildlife and the environment in which they are held. In addition, several studies conclude on the importance to know the aspects of basic biology of these species, including information on reproductive biology, and these data are key in setting priorities for conservation of the same (Boyce, 1992; Reed *et al*. 1998; Quader, 2005, Velevski *et al.* 2014, Machado *et al.* 2017). In this sense, this study aimed to evaluate the reproductive success of three different populations of T. *caudatus* in Araucaria Plateau using different environments, such as native and impacted by agriculture and forestry areas.

MATERIAL AND METHODS

Sampling

Three nesting sites were monitored (Figure 1), which were classified by natural environmental characteristics and/or anthropogenic relating to land use. Group A was located in Bom Jesus, and nesting occurred in Eucalyptus sp. who were near habitations. In the surrounding area was forestation of exotic species Pinus sp. and pastures for cattle. Group B was found in São José dos Ausentes, nesting was held on Araucaria Angustifolia on the edge of a forest fragment modified without understory, due to cattle trampling. Its surroundings had modified the native field. Group C, also located in Bom Jesus and the subjects performed nesting on individuals of A. *angustifolia* near housing, associated with native pasture and native forest in adjacent areas. Thus, they considered that the groups were at different levels of anthropogenic pressure.

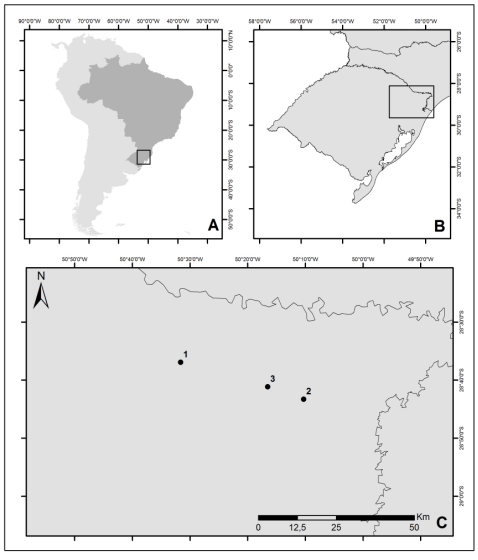


Figure 1. *Map of the study area showing the location of the three groups: a) in relation to Brazil, b) in relation to the state of Rio Grande do Sul; c) distribution of the three groups.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

The groups were followed during the breeding season of the year 2011 for the months from July to December, in monthly campaigns, lasting fifteen days, being that each group was observed for five days. During each campaign, the group was observed daily and observations were performed in the active period of subjects, ranging from 05:00 to 19:00. Totalizing a sampling effort of 600 hours of observation during the reproductive period, each group had about 200 hours.

The observation was directed at individuals in reproductive behavior, possible breeding pairs, as well as individuals in the nest. At the end of each campaign was carried out the count of the eggs with the aid of mirrors and rods in order to avoid further interference in the reproductive process of birds.

Statistical analysis

Three methods were used to determine the reproductive success: the apparent success (number of successful nests / number of active nests x 100), the hatching rate of eggs (number of pups that have flown / number of eggs laid x 100) and the Mayfield protocol (1961, 1975), whereas the modifications suggested by Hensler and Nichols (1981). Within the Mayfield, protocol was possible to calculate the daily survival rate (DSR), Daily mortality and survival probability of nesting in each group. DSR represents the probability of the nest remain active from one day to another, while the survival of the nest nests is the probability to generate at least one offspring at a period.

RESULTS AND DISCUSSION:

In the study, sites were observed a total of 93 individuals who formed 19 couples during the reproductive period (Table 1).

Monitored groups of T. *caudatus* maintained the density throughout the study, even outside the breeding season. The subjects performed movements for the feed sites in smaller flocks or pairs as described by Oliveira (2008), returning to the nest sites. The formation of bird aggregations were related to the reduction of losses in the reproduction (Master et al., 1993) allowing to conclude that over time the groups remain aggregated even after the breeding seasons, due to the better utilization of the resource, as well as possible protection against predators that larger groups can offer (Martins and Donatelli, 2001; Santos, 2009). Monitored groups of T. *caudatus* maintained the density throughout the study, even outside the breeding season. The subjects performed movements for the feed sites in smaller flocks or pairs as described by Oliveira (2008), returning to the nest sites. The formation of bird aggregations were related to the reduction of losses in the reproduction (Master *et al*., 1993) allowing to conclude that over time the groups remain aggregated even after the breeding seasons, due to the better utilization of the resource, as well as possible protection against predators that larger groups can offer (Martins and Donatelli, 2001; Santos, 2009).

It was observed that some couples used existing nests, and this strategy has been observed for seven nests, three for the A site, four for site B and C.

The estimated average incubation time was 25 ± 3.018 days. About 45 days after hatching period the first pups started to come out of the nest. The last puppy held the nest out about 60 days after hatching.

The reduction of the brood, a phenomenon where two or more eggs are laid, but usually only one develops, was present in the three groups and is widely observed in many groups of birds (Martins and Dias, 2003; Roberts, 2009; Rodriguez, 2009) inclusive may indicate a form of adaptation in response to low food conditions (Rodriguez, 2009).

In this sense, the laying of more than one egg may be interpreted as a mechanism to ensure the success of at least one young per nest. Even with a reduction of 87% of the eggs, the mortality rate of the less efficient group (A) was 0.6%. In work by Hass *et al.* (1999) with individuals from Scarlet ibis (Eudocimus ruber - Threskiornithidae) had mortality rates of 4% of eggs. In this study, it is reported that this reduction may be mainly associated with predation, an event that was not observed in any of the following groups.

In addition, the loss of chicks and nests has been reported in other species of the same family in the state of Rio Grande do Sul. Petry and Fonseca (2005) found varying rates of loss of nests, and the highest was 26.92% to Bared-faced ibis (*Phimosus infuscatus*) and 34.12% for White-faced ibis (*Plegadis chihi*).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

The average of the hatching success of eggs between groups was 42.47 ± 4.33%, with only the group A having a rate below the average (37.5%), while B (45.45%) and C (42.86%) had above-average rates. In turns, the apparent success was 79.44% ± 4.19 among the three groups. Group A had the apparent success of 75%, while B was 83.33% and C 79.44%.

The hatching rate of the eggs showed no big difference between the groups. In all of them the number of eggs remained close to the already reported average (Belton, 1994; Sick., 1997; Lorenzetto *et al.,* 2003), ranging from 1 to 3 eggs per nest, but resulting in all cases in only one young per nest. Daily survival rate excelled in group B with 100% probability of survival of a nest overnight. This was because since, even with the reduction of the clutch, all couples who lay eggs in this group had a puppy who flew from the nest.

Calculations using the Mayfield protocol showed differences between breeding groups. DSR and the probability of survival of nests for group A were 0.993 and 60.55%, respectively. While the C group had DSR 0.997 and 81.85% probability of survival of nests and for the B group, the values were 0.1 and 100%, as all nests obtained reproductive success.

Regarding the apparent success and Mayfield protocol is observed that, in both tests, group B stands with the greatest reproductive success, followed by C and A. The environment where the B group was found, showed intermediate environmental characteristics compared to other groups. This site has anthropic features that shy away from approaching predators of nests and feeding areas (Donazár *et al.*, 1994). On the other hand, the dirty fields used as feeding areas do not receive any anthropic influence, which can make the site as well as safe and less impacted with reduced external influence (Donazár *et al.,* 1994).

The partial reduction of the clutch was high, being approximately 87% of the nest reduced the clutch size, both in the incubation (10 occurrences) and in nestling phase (6 occurrences). It is noteworthy that only three nests become inactive with reduced litter size. The mortality rate to group A was 0.6% and C 0.26%, and in group B the value was zero because there were no losses of nests.

So with this study, we can confirm that the high adaptability of the species T. *caudatus* (Sigrist, 2009) may be related to using of different environmental and/or anthropogenic features found, influencing their reproductive success rates.

CONCLUSIONS:

The reproductive success of *Theristicus caudatus* was influenced by the environment in with the nests wore build. The presence of anthropic characteristics does not induce differences in egg hatching, although, only one site wave 100% probability of survival.

This survival tax and the reproductive success was higher in the area here the birds have access to food, but a minimum of disturbance in the environmental, that reduce the presence of predators on nesting or feeding spots.

ACKNOWLEDGMENTS:

We would like to thank the owners of the study areas that allowed us access and remain in their areas to carry out this study.

REFERENCES:

1. Belton, W. *Aves do Rio Grande do Sul, distribuição e biologia.* Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, RS, Brasil. **1994.** 584p.
2. Boyce, M.S. Population viability analysis. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **1992.** 23: 481-506.
3. Donazár, J.A.; Ceballos, O.; Travaini, A.; Rodriguez, A.; Funes, M. & Hiraldo, F. Breeding performance in relation to nest-site substratum in a Buff-necked Ibis (*Theristicus caudatus*) population in Patagonia. *Condor*, **1994.** 96: 992-1102.
4. Gantz, A., & Yañez, M.. Breeding biology of the black-faced Ibis (Theristicus melanopis) in Southern Chile. *Waterbirds*, **2016.** 39(4), 346-355.
5. Hass, A.; Matos, R. H. R. & Marcondes-Machado, L. O. Ecologia reprodutiva e distribuição espacial da colônia de *Eudocimus ruber* (Ciconiiformes, Threskiornithidae) na Ilha do Cajual, Maranhão. *Revista Brasileira de Ornitologia*, **1999.** 7(1): 41-44.
6. Hensler, G.L. & Nichols, J.D. The Mayfield

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

method of estimating nesting success: a model, estimators and simulation results. *Wilson Bulletin*, **1981.** 93(1): 42-53.
7. Lorenzetto, A. Lindoso, G. Russel, J.; Serbena, A.; Pichorim, M.; Reinert, B. L. & Salvo, L. Padrão de atividade diária em dois ninhos de curicacas (*Theristicus caudatus,* Threskionithidae) no Parque Estadual de Vila-Velha – PR. In: Sociedade Brasileira de Ornitologia. Anais do XII Congresso Brasileiro de Ornitologia. Blumenau – SC. **2004.**
8. Lorenzetto, A.; Pichorim, M.; Reinert, B.L.; Salvo, L.M.; Muller, C. & Lindoso, G. Aspectos da ecologia da curicaca, *Theristicus caudatus* (Threskionithidae), no Parque Estadual de Vila Velha – PR. In: Anais do XII Congresso Brasileiro de Ornitologia. Blumenau – SC. **2003.**
9. Machado, T. L. D. S. S., Lombardi, V. T., de Meireles, R. C., Teixeira, J. P. G., Solar, R. R. D. C., & Lopes, L. E. Breeding biology of the threatened Campo Miner *Geositta poeciloptera* (Aves: Scleruridae), a Neotropical grassland specialist. *Journal of Natural History*, **2017.** 51(41-42), 2551-2563.
10. Martins, F.C. & Donatelli, R.J. Estratégia alimentar de *Guira guira* (Cuculidae: Crotopahginae) na região centro-oeste do estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Ornitologia*, **2001.** 9(2): 89-94.
11. Martins, F.C. & Dias, M.M. Cuidado parental de *Sula leucogaster* (Boddaert) (Aves, Pelecaniformes, Sulidae) nas Ilhas dos Currais, Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia.* **2003.** 20(4): 583-589.
12. Master, T.L.; Frankel, M, & Russell, M. Benefits of foraging in mixed-species wader agregations in a sol New-Jersey. *Waterbirds*, **1993**. 14: 176 179.
13. Matheu, E. & Del Hoyo, J. Family Threskiornithidae (Ibises and Spoonbills). Pp. 472–506 In: del Hoyo J, Elliott A, Sargatal J (eds*). Handbook of the birds of the world*. Volume 1. Ostrich to Ducks. Lynx Edicions. Barcelona, Spain. **1992.**
14. Mayfield, H.F. Nesting success calculated from exposure. *Wilson Bulletin*, **1961.** 73(3): 255-261.
15. Mayfield, H.F. Suggestions for calculating nest success. *Wilson Bulletin*, **1975.** 87(4): 456-466.
16. Oliveira, A.C.. Ocupação ambiental e características populacionais de curicacas *Theristicus caudatus* em linhas de transmissão de alta tensão. *Dissertação de Mestrado*. Universidade de Brasília. Brasília, BR. **2008.**
17. Mortensen, J. L., & Reed, J. M. Population Viability and Vital Rate Sensitivity of an Endangered Avian Cooperative Breeder, the White-Breasted Thrasher (*Ramphocinclus brachyurus*). *PloS one*, **2016.** 11(2), e0148928.
18. Petry, M.V. & Fonseca, V.S.D.S. Breeding success of the colonist species *Bubulcus ib*is (Linnaeus, 1758) and four native species. *Acta Zoologica*, **2005.** 86(3): 217-221.
19. Quader, S. Mate choice and its implications for conservation and management. *Current Science*, **2005.** 89: 1220-1229.
20. Reed, J.M.; Elphick, C.S. & Oring, L.W. Life-history and viability analysis of the endangered Hawaiian Stilt. *Biological Conservation,* **1998.** 84:35-45.
21. Rodrigues, S.S. Biologia e sucesso reprodutivo de *Mimus saturninus* (aves: Mimidae) no cerrado. *Dissertação de Mestrado.* Universidade de Brasília, Brasília. **2009.**
22. Rodriguez, M.N. Assincronia e sincronia de eclosão: um teste experimental de reprodução em *Furnarius rufus*. *Dissertação de Mestrado*. Universidade Federal do Paraná. **2009.**
23. Santos, E.S.A. Biologia reprodutiva de *Vanellus chilensis* (Aves: Charadriidae): por que reproduzir em grupo? *Dissertação de Mestrado*. Universidade de Brasília, Brasília. **2009.**
24. Scherer-Neto, P. Aspectos bionômicos e desenvolvimento de *Theristicus caudatus* (Boddaert 1783). *Dusenia* **1982.** 13 (4): 145- 149.
25. Sick, H. *Ornitologia Brasileira*. 2 ed. Rio de Janeiro: Editora Nova Fronteira. **1997.**
26. Sigrist, T. Guia de campo Avis Brasilis – *Avifauna brasileira*: descrição das espécies. 1 ed. Vinhedo: AvisBrasilis Editora. **2009**
27. Velevski, M., Grubac, B., & Tomovic, L. Population viability analysis of the Egyptian Vulture *Neophron percnopterus* in Macedonia and implications for its conservation. *Acta Zoologica Bulgarica*, **2014.** 66: 43-58.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 1. *Reproductive data groups: Number of individuals, breeding pairs, average number of eggs per nest, build and active nests.*

	A	B	C	Total
Number of individuals	43	27	23	93
Breeding pairs	7 (36,84%)	6 (31,58%)	6 (31,58%)	19
Average number of eggs per nest	2 ± 0,82	1,83 ± 0,75	1,8 ± 0,84	1,87 ± 0,74
Built nests	6 (35,29%)	6 (35,29%)	5 (29,42%)	17
Active nests	4 (26,67%)	6 (40%)	5 (33,33%)	15

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

UTILIZAÇÃO DA LAMA VERMELHA DA INDÚSTRIA DE ALUMINA NA GRANULAÇÃO DA ESCÓRIA FUNDIDA DE ALTO FORNO CONTENDO ENXOFRE

USE OF DUMPED RED MUD OF ALUMINA INDUSTRY AT GRANULATION OF THE MOLTEN SULFUR-CONTAINING BLAST FURNACE SLAG

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОТВАЛЬНЫХ КРАСНЫХ ШЛАМОВ ГЛИНОЗЕМНОГО ПРОИЗВОДСТВА ПРИ ГРАНУЛЯЦИИ РАСПЛАВЛЕННЫХ СЕРОСОДЕРЖАЩИХ ПРОМЫШЛЕННЫХ ШЛАКОВ

LEBEDEV, Andrey B.[1*]; UTKOV, Vladimir A.[1]; KAYGORODOVA, Olga A.[2]; KADYROV, Marsel A.[3]

[1]Saint-Petersburg Mining University, Department of Metallurgy, 2 21st Line, zip code 199106, St Petersburg – Russian Federation
(phone: + 8(931)300-79-27)

[2]Dmitry Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, Department of Processes and Apparatus of Chemical Technology, 9 Miusskaya Sq., zip code 125047, Moscow – Russian Federation
(phone: +7(916)5414238)

[3]Tyumen Industrial University, Department of Geology of Oil and Gas Fields, 56 Volodarsky Str., zip code 625000, Tyumen – Russian Federation
(phone: +7 (9829)336206)

** Corresponding author*
e-mail: 2799957@mail.ru

Received 06 June 2018; received in revised form 28 November 2018; accepted 28 December 2018

RESUMO

Há um problema no uso de resíduos da produção de alumina da lama vermelha de bauxita. O armazenamento é repleto de catástrofes ecológicas. As lamas vermelhas pioram constantemente o ambiente devido ao pó e à poluição das águas naturais. A lama vermelha é um produto do processamento de bauxita. Uma tonelada de alumina é responsável por 1 a 2,5 toneladas de lama vermelha. Atualmente, não está sendo processado, apesar da disponibilidade de 3.000 publicações e patentes sobre este tema. Um deles é justificado pela ambiguidade na eficácia econômica de seu uso pelos consumidores. Neste artigo, as opções de eficiência econômica e ambiental do uso de lama vermelha são apresentadas como substitutas da cal e calcário usados na purificação de gases industriais emitidos para a atmosfera em grandes quantidades com compostos tóxicos de enxofre. Testes laboratoriais e industriais revelaram as propriedades de sorção das lamas vermelhas. Ao limpar gases do enxofre emitido para a atmosfera por gases de fornos, usinas térmicas, máquinas de sinterização e fornos siderúrgicos. Além disso, é mostrada a eficiência ecológica e tecnológica da purificação de gases contendo enxofre liberados nas áreas de granulação de escórias fundidas de alto forno.

Palavras-chave: *processamento de escória, melhoria ambiental, escória granulada, características de fabricação, redução de emissões de enxofre e gases de efeito estufa.*

ABSTRACT

There is a problem of using waste of alumina production from bauxite red mud. Warehousing of it is fraught with ecological catastrophes. Red muds constantly worsen the environment due to dusting and pollution of natural waters. Red mud is a product of bauxite processing. One ton of alumina accounts for 1 to 2.5 tons of red mud. Currently, it is not being processed, despite the availability of 3,000 publications and patents on this topic. One of them is justified by the ambiguity in the economic effectiveness of its use by consumers. In this

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

paper, the options for economic and environmental efficiency of RM use are presented as substitutes for expensive lime and limestone used for purification of industrial gases emitted to the atmosphere in large quantities with toxic sulfur compounds. Laboratory and industrial tests revealed the sorption properties of red muds. When cleaning gases from sulfur emitted into the atmosphere by furnace gases, thermal power plants, sinter machines, and steelmaking furnaces. In addition, the ecological and technological efficiency of purification of sulfur-containing gases released in the areas of granulation of molten blast-furnace slags is shown.

Keywords: *slag processing, environmental improvement, granulated slag, fabrication characteristics, reducing emissions of sulfur and greenhouse gases.*

АННОТАЦИЯ

Существует проблема использования отхода производства глинозема из бокситов красного шлама. Складирование его чревато экологическими катастрофами. Красные шламы постоянно ухудшают окружающую среду из-за пыления и загрязнения природных вод. Красный шлам является продуктом переработки бокситов. На одну тонну глинозема приходится от 1 до 2,5 т красных шламов. В настоящее время он не перерабатывается, несмотря на наличие 3000 публикации и патенты по этой теме. Одна из них обоснована неясностью по экономической эффективности его использования потребителями. В данной работе представлены варианты экономической и экологической эффективности использования красных шламов, как заменителей дорогостоящих извести и известняка, используемых для очистки выбрасываемых в атмосферу в больших количествах промышленных газов с токсичными соединениями серы. Лабораторными и промышленными испытаниями выявлены сорбционные свойства красных шламов при очистке газов от серы выбрасываемых в атмосферу печными газами теплоэлектроцентралей, агломерационных машин и сталеплавильных печей. Кроме этого показана экологическая и технологическая эффективность очистки серосодержащих газов, выделяющихся на участках грануляции расплавленных доменных шлаков.

Ключевые слова: *переработка, улучшение экологии, граншлак, технологические свойства, сокращение выбросов сернистых и парниковых газов.*

INTRODUCTION

The most urgent task of modern non-ferrous metallurgy is the processing of alumina waste from bauxite – red mud. Their traditional storage not only constantly worsens the environment due to dusting and pollution of natural waters but also leads to an environmental disaster (Korneev *et al.*, 1991). Per 1 ton of alumina accounts for from 1 to 2.5 tons of red mud. Currently, there are more than 3,000 publications and patents on their processing. The most recent works are listed in the attached bibliography (Trushko *et al.*, 2017; Utkov and Meshin, 1999; Utkov, 2006; Liu *et al.*, 2009; Thakur and Sant, 1983; Klauber *et al.*, 2011; Júnior *et al.*, 2013; Venancio *et al.*, 2010). The search for new industrial technologies continues. One of them is the use of red muds to reduce the emission of gases into the atmosphere by combined heat and power plants (CHP) and industrial furnaces of sulfur compounds. Waste-free use of red muds is especially effective when granulating molten slags. Granulated slag is sustainably used in large quantities in cement production, in road construction, agriculture, and in other areas of engineering and technology (Sorokin and Demin, 2003; Sennik *et al.*, 2008; Memoli and Guzzon, 2007; Li *et al.*, 2004; Shkolnik *et al.*, 2011; Kuhn *et al.*, 2000; Aleshin *et al.*, 2008; Kravchenko, 2015; Arbuzov *et al.*, 2009; Grospich *et al.*, 2004; Voskoboinikov *et al.*, 2002). When granulating slags, usually containing sulfur, a large amount of harmful substances are released into the atmosphere: sulfur oxides and mainly hydrogen sulfide (Sorokin and Demin, 2003). Its concentration on the working sites of the granulation areas is many times higher than the maximum permissible concentration. The composition of the coolant often injected fine lime or limestone to combat this phenomenon, but it is costly.

In this paper, we studied the possibility of replacing these materials with a fine dumped red mud. Laboratory and industrial tests were conducted. It was found that with the help of red mud, the concentration of sulfur-containing gases at the granulation work sites can be reduced by two orders of magnitude. At the same time, the technological properties of the granulated slag

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

can be improved in terms of the main technological properties.

CHEMICAL COMPOSITION OF TESTED RED MUD INDUSTRIAL SAMPLES:

Laboratory and industrial tests revealed the sorption properties of red muds when cleaning gases from sulfur emitted to the atmosphere by furnace gases of combined heat and power plants, sintering machines and steelmaking furnaces. In addition, the ecological and technological efficiency of purification of sulfur-containing gases released at the sites of the granulation by molten blast furnace slags is shown.

According to the chemical composition of red muds (Table 1), almost all components of red mud can chemically interact with sulfur compounds according to the reactions (Eq. 1-7)

The calculations of the potential capacity of red muds components by their interactions taking into account the joint technological efficiency of the complex of oxides contained in red mud. The results are shown in Table 2.

RESULTS OF LABORATORY RESEARCH:

Laboratory studies were carried out using the test facility shown in Figure 1. It was also used to determine the sorption properties of red mud with respect to sulfur oxide. Sulfur oxide was obtained in a furnace and in specified dosage quantities (proportions) mixed with air. The mixture was sucked through a tank with slurry pulp using a water jet or vacuum pump. The gas mixture, bubbled through a mixture of pulp, was sent to another absorption tank filled with a solution of NaOH.

During work with sulfur dioxide SO_2, an additional 3% hydrogen peroxide was introduced into the alkali solution to oxidize it to SO_3, which reliably bound by caustic alkali to sulfates and nitrates. The amount of absorbed gas was determined by changing the concentration of NaOH by simple titration or by changing the color of the indicator when the caustic solution was completely neutralized. Knowing the total amount of oxide produced in the furnace and the amount of oxide absorbed in the control tank, the amount of gas absorbed by the sludge slurry in the working tank was determined.

As a source of sulfur oxides, an alunite roasting reaction $K_2SO_4 \cdot Al_2(SO_4)_3 \cdot 2Al_2O_3 \cdot 6H_2O$ was used. The choice of this reaction was determined by the fact that, depending on the firing conditions, it allows to obtain either SO_2 or SO_3. Under oxidizing conditions (with an excess of air), the decomposition of alunite proceeds with the formation of sulfuric gas SO_3 (Eq. 8). SO_3 is reduced to sulfur dioxide SO_2 with the reducing agent (ground coal) (Eq. 9). Thus, it was possible to get different sulfur oxides on the same equipment with a slight change in the firing mode.

The above equations made it possible to calculate the amount of gases produced during the firing of a specific sample of alunite, taking into account the content of SO_3 and $K_2O + Na_2O$ in real alunite rock.

The average concentration of sulfur oxides in the gas-air mixture was set at 0.1% of the total volume. This value was chosen to simulate the composition of industrial gas emissions. For the preparation of the sorbent slurry under study, eleven parallel samples of industrial waste sludge from real alumina production were prepared.

The laboratory studies have studied the effect of the solid to liquid ratio of red muds in the wet scrubbing of gases from sulfur. Since red mud is a fine material, it was used as pulp with a solid to liquid ratio from 3:1 to 8:1. The optimum ratio is 5:1. The results are shown in Figure 2

This result was used to the practical use of red mud in wet granulation of molten blast furnace slag (Aleshin *et al.*, 2008). Granulation plot is one of the most dangerous emissions of hydrogen sulfide and sulfur dioxide into the atmosphere (Kravchenko, 2015).

Since, in practice, lime ($Ca(OH)_2$) is used in most cases for the removal of sulfur dioxide, experimental studies on pulps have shown that red mud has not worse sorption properties than lime. Fig. 3 shows the data of the use of ground lime and red mud in terms of their efficiency, they are almost equal, but red mud is more technological and cheaper (more than 5 times).

RESULTS OF INDUSTRIAL TESTS:

The technology of using red muds during granulation of sulfur-containing molten slags was tested in industrial conditions. One of the most common sulfur-containing slags is blast furnace slags.

Industrial tests on the use of red mud for the removal of sulfur from industrial gases emitted into the atmosphere were carried out at

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

the “Severstal” enterprise. The results of industrial tests are shown in table 3. Tests have shown that the degree of purification from these gases in the atmosphere can reach as high as 97-100% using red mud.

The disadvantage of using red mud for the purification of industrial gases from sulfur is a problem with the use of a saturated sorbent, which is poured into a sludge depository. More advantageous is the use of red mud instead of lime in granulation blast furnace slags. The waste-free technology is provided by the proposed granast blast furnace slags method. It seems to use red muds when blast furnace slags are granulated. This process suffers from the release of large amounts of hydrogen sulfide to the work site of granulation, much higher than the maximum permissible concentration (0.008 mg/m^3) (Arbuzov *et al.*, 2009). Industrial tests were carried out, showing that using red slugs in the form of pulp, solid to liquid ratio = 5:1. The content of sulfur dioxide can be reduced by two orders of magnitude. The content of sulfur dioxide decreased by more than 10 times and reached the level of maximum permissible concentration (table 4).

It is important to note that the technology of using red mud granulation blast furnace slags is a waste-free technology. Red mud as a part of the granulated slag improves its technological properties. The rate of drying of this material increases to reduce transportation costs (Figure 4). Also, the power consumption for grinding the granulated slag is reduced before being added to the blast-furnace cement (Figure 5).

About 200 tons of red mud were used in industrial tests. When determining the content of SO_2 in gas-vapor emissions test has shown a positive result. The hydrogen sulfide content of 7.0-8.0 mg/m^3 is significantly lower than its content with other methods of granulation.

CONCLUSIONS:

1. Storage of red mud alumina production wastes in sludge collectors is harmful to the environment and carries the risks of an ecological catastrophe. These risks increase due to the increasing number of natural disasters (earthquakes, hurricanes, heavy rains, etc.). Therefore, it is necessary to develop technologies that ensure the processing of red muds instead of storage.

2. It has been established experimentally that the proposed options for using red muds to clean sulfur compounds emitted into the atmosphere give an economic effect by replacing expensive lime and limestone and reducing the cost of operating sludge collectors. The double ecological effect is in reducing the risk of storing sludge in sludge collectors and improving the ecology of red mud consumers.

3. Industrial tests have shown that the hydrogen sulfide content during granulation of slags with the participation of red mud decreases in 10 times. Technological properties of the granulated slag are improved: increases the speed of drying and reduces the cost of its grinding.

ACKNOWLEDGMENTS:

This research was financially supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (project No. 11.4098.2017/ПЧ of 01.01.2017).

REFERENCES:

1. Aleshin, A., Ostroushko, A., Pustovalov, Yu. Rationality and the blade, *Metall*, **2008**, *7*, 50.
2. Arbuzov, V.A., Isanova, B.Kh., Belyakova, M.O. Cleaning of flue gases of CHP from oxides of sulfur and nitrogen, *Casting and Metallurgy*, **2009**, *3(52)*, 99.
3. Grospich, K.-X., Evers, V., Dombrovski, G. New plant for slag granulation, *Ferrous Metals*, **2004**, *3*, 33.
4. Júnior, A., Borges, A., Oliveira, A. Using the multivariate statistical in the identification of alumina loss in red mud, *Brasil. Light Metalls*, **2013**, *4*, 87.
5. Klauber, C., Grafe, M., Power, G. Bauxite residue issues: II. options for residue utilization. *Hydrometallurgy*, **2011**, *108*, 11.
6. Korneev, V.I., Suss, A.G., Tsekhovoy, A.I. *Red muds – properties, storage, application*, Moscow: Metallurgakh, **1991**.
7. Kravchenko, V.P. Analysis of the methods of granulation of slag melts and factors affecting the quality of the slag, *News of Priazov State Power Technical University*, **2015**, *30(1)*, 51.
8. Kuhn, M., Drissen, P., Schrey, H. Successful treatment of liguid BOF slag at Thyssen Krupp Steel, *3rd European*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Oxygen Steelmaking Conference, Birmingham, U.K., **2000**.
9. Li, T.S., Choi, I.S., Son, V.E. Technology of utilization of ladle slag, *Ferrous Metals*, **2004**, *5*, 28.
10. Liu, W., Yang, J., Xiao, B. Review on treatment and utilization of bauxite residues in China, *International Journal of Mineral Processing*, **2009**, *93(3-4)*, 220.
11. Memoli, F., Guzzon, M. Recycling of furnace by-products by injection into an electric arc furnace – experience and prospects. *Ferrous Metals*, **2007**, *4*, 26.
12. Sennik, A.I., Milyukov, S.V., Proshkina, O.B. Formation of hydrogen sulphide emissions during external granulation of blast furnace slags, *Bulletin of MSTU named after G.N. Nosov*, **2008**, *3*, 75.
13. Shkolnik, Ya.Sh., Shakurov, A.G., Mandel, M.Z. New technology and equipment for slag melts processing, *Metallurg*, **2011**, *10*, 58.
14. Sorokin, Yu.V., Demin, B.L. Ecological and technological aspects of processing steelmaking slags, *Ferrous Metallurgy*, **2003**, *3*, 75.
15. Thakur, R.S., Sant, B.R. Utilization of red mud. Analysis and utilization as raw material for absorbents, building-materials, catalysts and pollution problems, *J. Sci. Ind. Res.*, **1983**, *42(2)*, 87.
16. Trushko, V.L., Utkov, V.A., Bazhin, V.Yu. Actualities and possibilities of complete processing of red muds of alumina production. *Notes of the Mining Institute*, **2017**, *227*, 547.
17. Utkov, V.A. Processing of red sludge, *Materials of international scientific-practical conference (15-18 October 2006)*, St. Petersburg: RUSAL VAMI, **2006**.
18. Utkov, V.A., Meshin, V.V. Industrial methods for processing red sludge, *State of the problem and the direction of use in the economy of red mud*, Nikolaev: NGZ, **1999**.
19. Venancio, L.A., Paiva, A.E.M., Macedo, E.N., Antonio, J., Souza, S. Bauxite residue neutralization with carbon sequestration, *Brazil. Light Metalls*, **2010**, *167*, 185.
20. Voskoboinikov, V.G., Kudrin, V.Y., Yakushev, A.M. *General metallurgy*, Moscow: Academic Library, **2002**.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

$CaO+H_2S \rightarrow CaS+H_2O$ (1)

$CaO+SO_2 \rightarrow CaSO_3$ (2)

$Fe_2O_3+3SO_2 \rightarrow Fe_2(SO_3)_3$ (3)

$Fe_2O_3+H_2S \rightarrow Fe_2SO_3+H_2$ (4)

$Al_2O_3+3SO_2 \rightarrow 2Al(SO_3)_3$ (5)

$Na_2O+SO_2 \rightarrow Na_2SO_3$ (6)

$Na_2O+H_2S \rightarrow Na_2S+H_2O$ (7)

$$K_2SO_4 \times Al_2(SO_4)_3 \times 2Al_2O_3 \times 6H_2O \rightarrow 800° \rightarrow K_2SO_4 + 3Al_2O_3 \times 2Al_2O_3 + 6H_2O + 3SO_3 \quad (8)$$

$$K_2SO_4 \times Al_2(SO_4)_3 \times 2Al_2O_3 \times 6H_2O + 1{,}5C \rightarrow 700° \rightarrow K_2SO_4 + 3Al_2O_3 \times 2Al_2O_3 + 6H_2O + 1{,}5CO_2 + + 3SO_3 \quad (9)$$

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

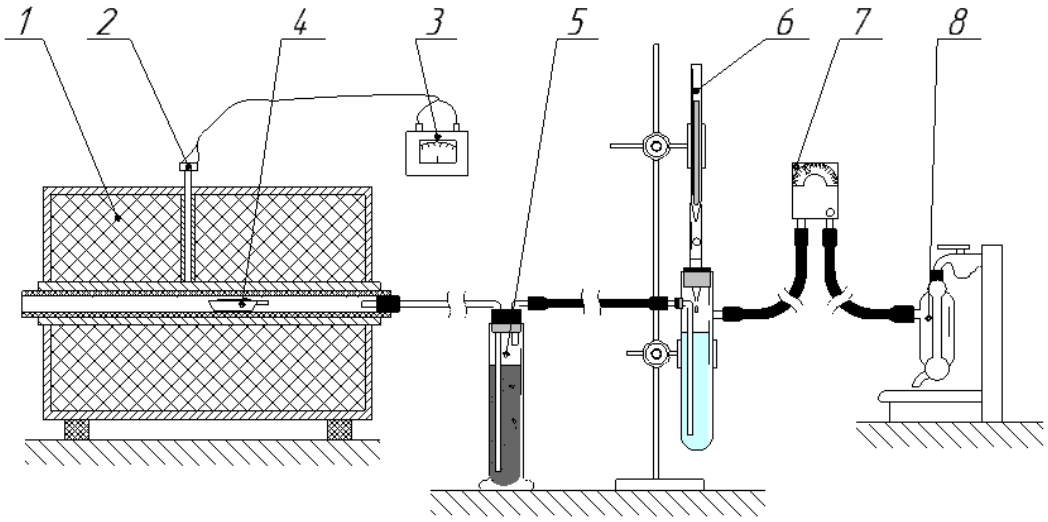


***Figure 1**. Test facility for sulfur oxides: 1 – silicon furnace; 2 – thermocouple; 3 – millivoltmeter; 4 – material boat; 5 – Drexel flask with pulp; 6 – burette with NaOH solution; 7 – calculating counter; 8 – sulfur-containing water jet pump*

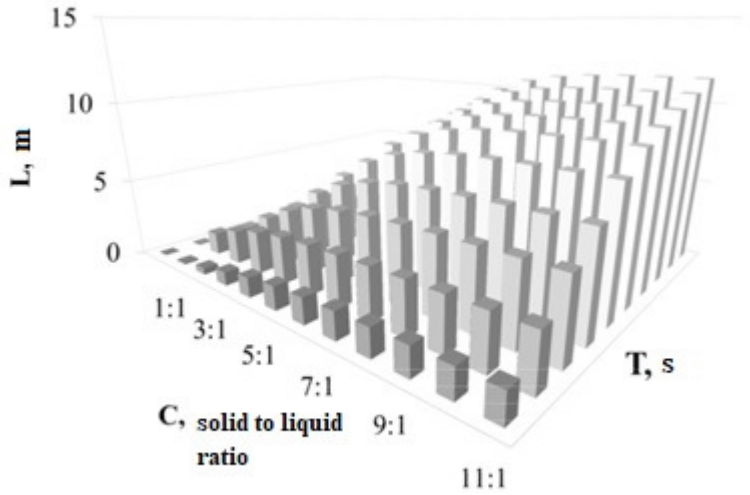


***Figure 2**. The optimal ratio of solid to liquid ratio pulp of red mud*

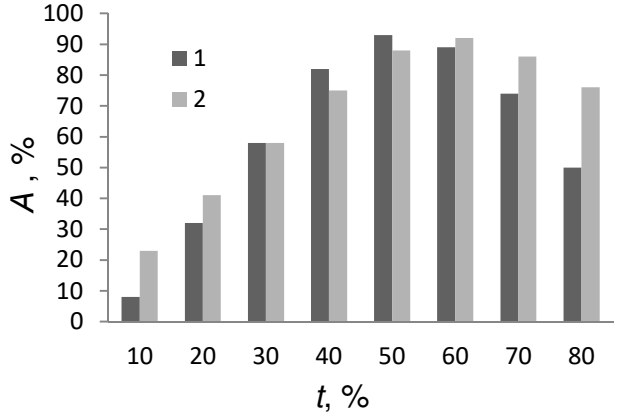


***Figure 3.** Comparison of sorption capacity for capturing SO_2: 1 – pulps with $Ca(OH)_2$; 2 – pulps with red muds; A – pulp sorption capacity; t – interaction time*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

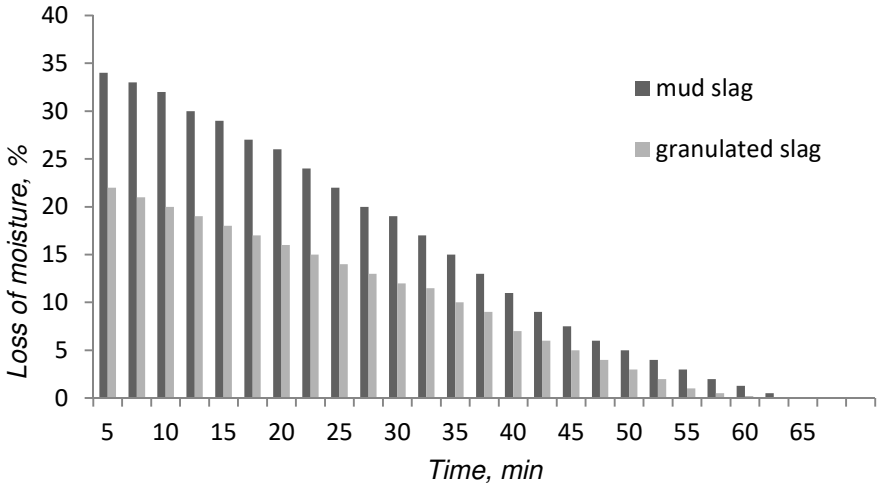


Figure 4. *Comparative material drying speed*

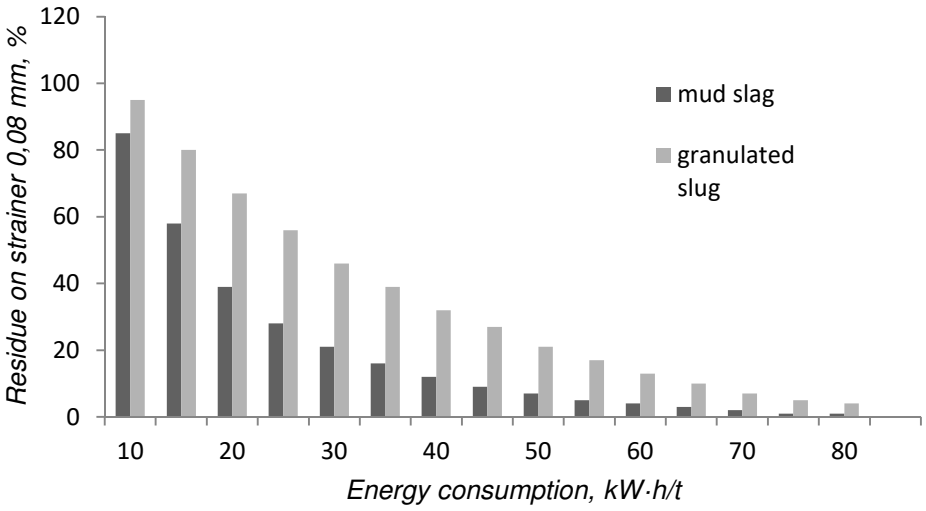


Figure 5. *Kinetic grinding curves*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 1. *The chemical composition of the most representative components and size of industrial red muds*

Method for the production of alumina from bauxite	Chemical composition, %						Average size, mm
	Fe_2O_3	SiO_2	Al_2O_3	CaO	R_2O	Loss on ignition	
Bayer's method	42-55	5-8	12-17	8-13	4-9	6-10	0-0,05
Sintering method	20-25	16-20	8-10	37-42	2-3	4-5	0-10,0

Table 2. *The chemical composition of industrial samples tested dump muds of alumina production*

No	Al_2O_3	Fe_2O_3	CaO	Na_2O
1	11-13	50-57	8-10	1,5-2
2	17-20	47-52	-	2,5-3,8
3	16-19	45-49	8-11	4-5
4	14-15	37-39	11-13	3-4
5	14-16	32-35	13-15	4-6
6	14-15	32-39	11-13	3-4,5
7	13-14	36-42	11-13	3-4
8	12-13	30-32	22-26	4-6
9	12-14	38-40	13-15	4-5
10	4-5	22-24	39-41	2-2,5
11	7-9	20-24	35-37	4-5

Table 3. *Comparative annual average flue gas treatment data using red muds*

Characteristics of gases emitted into the atmosphere	Combined heat and power plant		Siemens-Martin plant		Agloproduction	
	-	Red mud	-	Red mud	-	Red mud
SO_3 content, mg/m^3	150-400	13-17	100-200	8-11	250-950	12-17
Cleaning degree, %	95-100		97-100		94-100	
Productivity, thousand m^3/h	2400		200-300		1630-1900	
Temperature, °C	120-150		190-250		125-145	
Dustiness after electrostatic precipitators, g/m^3	0,1-0,14		0,1-0,19		0,1-0,15	

Table 4. *Pollution level in waste gases*

Admixture name	Contamination level in waste gases mg/m^3			
	Without admixtures	+ $Ca(OH)_2$	+ Red mud	Maximum permissible concentration
H_2S	110	0,010	0,008	0,008
SO_2	150	0,045	0,045	0,050
SO_3	75	0,008	0,008	0,100

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

APLICAÇÃO DO CATALISADOR KI-MCM-41 NA REAÇÃO DE ESTERIFICAÇÃO DO ÓLEO DE OITICICA (*licania rigida Benth*)

APPLICATION OF THE CATALYST KI-MCM-41 IN THE OTERTIC OIL ESTERIFICATION REACTION *(licania rigida Benth)*

PEREIRA, Marília Gabriela Araújo[1]*, SILVA, Antônio Alex de Lima[2]; MATIAS, Luiz Gonzaga de Oliveira[3];; CALDEIRA, Vinicius Patrício da Silva[3]; SANTOS, Anne Gabriella Dias[3]; SOUZA, Luiz Di[3]

[1] Universidade Estadual do Rio Grande do Norte, Departamento de Química, Faculdade de Ciências Exatas de Naturais, Av. Prof. Antônio Campos, cep. 59625-620, Mossoró - RN, Brasil
(fone: +55 84 996667626)

[2] Universidade Estadual do Rio Grande do Norte, Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais, Av. Prof. Antônio Campos, cep. 59625-620, Mossoró - RN, Brasil
(fone: +55 84 88388764)

[3] Universidade Estadual do Rio Grande do Norte, Departamento de Química, Faculdade de Ciências Exatas de Naturais, Av. Prof. Antônio Campos, cep. 59625-620, Mossoró - RN, Brasil

** Autor correspondente*
e-mail: marilia-gap@hotmail.com

Received 09 November 2018; received in revised form 23 December 2018; accepted 04 January 2019

RESUMO

O biodiesel é um combustível renovável constituído por ésteres monoalquilicos de ácidos graxos, podendo ser produzidos por óleos vegetais, gorduras animais e até óleos residuais derivados da indústria alimentícia. No entanto, a oleaginosa mais usada para produção é a soja, sendo necessário a busca por oleaginosas que não entrem na competição do mercado alimentício. Um estudo sobre oleaginosas se faz necessário para avaliar as propriedades físico-químicas. Nesse sentindo a oiticica se apresenta como uma espécie típica de matas ciliares da caatinga verdadeira. Sua amêndoa constitui cerca de 70% do fruto e contém de 60 a 63% de óleo que em sua composição química, apresenta, principalmente, os ácidos graxos licânico (70 a 80%) e o linolênico (10 a 12%). O trabalho analisou as propriedades físico-químicas do óleo de oiticica extraído da semente verde e comparou com as das sementes maduras disponíveis na literatura. O biodiesel da semente verde foi produzido usando como catalisador o MCM-41 impregnado com iodeto de potássio (KI) nas concentrações 2,5 e 7,5%. A impregnação do KI desorganizou ligeiramente a estrutura e alterou as propriedades texturais do MCM-41 aumentando o diâmetro de poro e diminuindo o volume de poros e a área superficial, porém os principais picos típicos do MCM-41 não foram destruídos. Antes da aplicação foi realizada a hidrólise do óleo para a eliminação dos materiais insaponificaveis e em seguida, a esterificação do ácido graxo com diferentes proporções de KI. O resultado foi conversão dos ácidos graxos, em ésteres, ocorrendo também a formação de materiais de maior massa molar. Dessa forma nota-se que óleo da semente verde comparado com a madura possui propriedades distintas, sendo necessário o pré tratamento para a reação de biodiesel e que os catalisadores usados proporcionam porcentagens distintas de conversão em ésteres metílicos.

Palavras-chave: *Oiticica, semente verde, catalise heterogênea, MCM-41*

ABSTRACT

The Biodiesel is renewable fuel constituted for monoalkyls esters of fatty acids, can be produced by vegetable oil, animal fat and even residual oils from food industry. However the most used oleaginous to produce is soy, being necessary search for another king of oleaginous that do not enter the food market competition. A research about oleaginous is necessary to evaluate the physical-chemical properties. The

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Oiticica Tree is a typical species from riparian forests of the caatinga. Its fruit is composed 70 % for a nut and content between 60 and 63% of oil in its chemical composition, presently mainly the licorice fatty acids (70 up to 80%) and linolenic (10 up to 12%). This study analyzed the physicochemical properties of the extracted oil from Oiticica Tree green nut in comparison with extracted oil from mature nuts in available studies. The Biodiesel from green nut was produced using as catalysts MCM-41 impregnated with potassium iodide (KI) in the concentrations 2,5 and 7,5%. The impregnation with KI slightly disorganized the structure and altered the textural properties of MCM-41 increasing the pore diameter and reducing pore volume and surface area, but the main typical peaks of MCM-41 were not destroyed. Before the application, the oil was hydrolyzed for the elimination of unsaponifiable materials after that a fatty acid esterification with different proportions of KI. The result was conversion of fatty acids preferably in acid esters, but also had the formation of materials of higher molar mass not identified in this study. In this way we can see that the oil from green seed in comparation with matures seed have different properties being necessary the pre-treatment for biodiesel reaction and the used catalysts provides different percentages of conversion to methyl esters.

Keywords: *Oiticica, green seed, heterogeneous catalysis, MCM-41*

INTRODUÇÃO

O biodiesel é um combustível renovável e não-poluente, que pode substituir o óleo diesel de origem fóssil (Paulillo *et al*. 2007). Apresenta vantagens ambientais em relação ao diesel mineral, como baixos níveis de emissão de monóxido de carbono, não liberação de compostos de enxofre na atmosfera e menores emissões dos principais gases do efeito estufa, onde o gás carbônico produzido na sua combustão é quase que totalmente fixado durante o cultivo das oleaginosas (Peterson *et al*. 1998; Zhang *et al*. 2011). O biodiesel possibilita a geração de empregos no campo, devido ao desenvolvimento da agricultura nas zonas rurais, a enorme área agricultável e a grande quantidade de plantas produtoras de óleos no Brasil são consideradas como vantagens na corrida científica pelo domínio dessa nova tecnologia. No entanto, o óleo de cada planta é diferente em suas características básicas como composição e estrutura química o que reflete em propriedades físico-químicas diferentes, e consequentemente, também, produz biodieseis com propriedades diferentes, o que dificulta o controle de qualidade do combustível comercializado (Pinto *et al*. 1963).

No Nordeste, algumas culturas se destacam por serem adaptáveis ao clima do semiárido como é o caso da mamona, pinhão manso e oiticica (Monteiro, 2007; Cordeiro, *et al.* 2011). A oiticica (*Licania rigida Benth*), da família Chrysobalanaceae, é uma espécie produtora de óleo que tem aplicações industriais na indústria de tintas e secantes e de sabões (Oliveira *et al*. 2012). O biodiesel pode ser produzido pela transesterificação, também conhecida como alcoolize, de óleos vegetais e/ou gorduras animais ou hidroesterificação, a qual consiste na hidrólise dos triacilglicerois, seguida da esterificação dos ácidos graxos. A vantagem deste processo reside na possibilidade da utilização de matérias-primas de menor valor agregado, independentemente de sua acidez e umidade. Isso evita problemas de contaminação do biodiesel com resíduos de glicerol livre ou total (mono, di e triacilglicerois), gerando-se um produto de alta qualidade e uma glicerina com elevado grau de pureza (Silva, 2009).

Atualmente a produção industrial de biodiesel ocorre através da transesterificação utilizando a catalise básica homogênea, tendo como vantagens o alto rendimento de conversão e baixo tempo (Helwani, *et al.* 2009; Cordeiro *et al.* 2011). Porém, a difícil separação do catalisador, produção de sabões, e geração de muito efluente residual poluidor, são desvantagens dessa rota, (Gallo, 2005). Por tais motivos vêm-se procurando formas mais limpas, seguras, rápidas e eficientes para produção de biodiesel. Com isso os catalisadores heterogêneos têm tido grande interesse das áreas científicas e industriais, pois oferecem vantagens como: fácil manuseio, recuperação e reutilização do catalisador, além de gerar menos resíduos (Soldi *et al.* 2009; Ghesti, *et al.* 2012).

Os catalisadores básicos heterogêneos apresentaram taxas de conversões maiores do que os sólidos ácidos e, desta forma, têm sido estudados com maior ênfase. Alguns trabalhos relatam a obtenção de catalisadores mesoporosos pela incorporação de óxidos alcalinos e alcalino-terrosos, ou moléculas

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

orgânicas básicas, na superfície dos materiais mesoporosos (Tapanes, *et al.* 2008; Tapanes, Perez, Cruz, 2013; Cantrel *et al*. 2005; Wang *et al*. 2005). Em contrapartida, a aplicação de tais compostos como catalisadores heterogêneos na síntese de biodiesel apresenta problemas, devido à fácil carbonatação e lixiviação parcial dos mesmos no meio reacional (Galvão *et al*. 2012).

Uma das maneiras de conter tais problemas é incorporar o óxido em um suporte catalítico. Neste sentido, a peneira molecular mesoporosa do tipo MCM-41, se apresenta como um suporte catalítico favorável para o desenvolvimento de novos catalisadores, com fases ativas e bem dispersas. Ela apresenta um arranjo hexagonal de mesoporos unidimensionais com diâmetro que pode variar entre 2-10 nm, uma estabilidade térmica adequada, volume de poros alto e área superficial acima de 700 m^2g^{-1}, além da acessibilidade á moléculas grandes (triglicerídeos e ácidos graxos) aos sítios ativos no interior dos poros, estas características vêm tornando o MCM-41 um material bastante promissor na catálise (Castro, 2010).

Galvão *et al.* 2012, mostram um trabalho em que iodeto de potássio é suportado em peneiras moleculares mesoporosas (SBA-15 E MCM-41) como catalisador básico para síntese de biodiesel no qual as taxas de conversões são consideráveis, em um tempo de reação muito menor, se comparados com outras reações que envolvem iodo (Ramalinga *et al.* 2002; Li e Xie, 2006).

Com base nas principais problemáticas abordadas, este trabalho teve como objetivo estudar as características físico-químicas do óleo de oiticica extraído da semente verde e avaliar a atividade catalítica de catalisadores impregnados com diferentes porcentagem de KI (iodeto de potássio), na produção de biodiesel via hidroesterificação

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Coleta, tratamento e extração do óleo de oiticica

A coleta das sementes de oiticica (*Licania rigida Benth*) foi realizada na comunidade de Lagoa de Paus, em fevereiro de 2014 na zona rural de Mossoró (RN). As sementes foram extraídas verdes, lavadas e secas em estufa a 60°C por 96 h. Posteriormente foram descascadas e trituradas mecanicamente em liquidificador industrial. A extração do óleo foi realizada a quente, em sistema soxhlet com n-hexano por um período de 4h. O óleo foi purificado através da sua concentração num evaporador rotativo a pressão reduzida (Oliveira *et al.* 2012).

2.2. Reação de hidroesterificação

Com finalidade de obter conversões melhores realizou-se uma hidrólise seguida de uma esterificação. A hidrólise do óleo foi realizada numa razão molar de 1:3 de óleo: hidróxido de sódio, utilizando metanol como solvente e 3% de catalisador. Estas foram realizadas em um balão de fundo chato de 250 mL, acoplado a um condensador em refluxo e um agitador magnético, sob pressão atmosférica, durante um período de 3 h. Após a reação, a mistura foi colocada em um funil de separação, separando-se o glicerol e a água do meio. Os ácidos graxos foram submetidos ao processo de esterificação. Para tal processo utilizou-se os ácidos graxos obtidos na razão molar 1:1 com metanol, utilizando para cada reação 3% dos catalisadores sintetizados. A reação foi realizada em um balão de vidro de 250 ml acoplado a um condensador, em refluxo e um agitador magnético sob pressão atmosférica, durante 6 horas de reação. Após a reação foi feita a purificação do biodiesel de maneira semelhante ao usado na transesterificação (Ranucci, C. R., *et al.* 2015)

2.3. Caracterizações realizadas no óleo de Oiticica

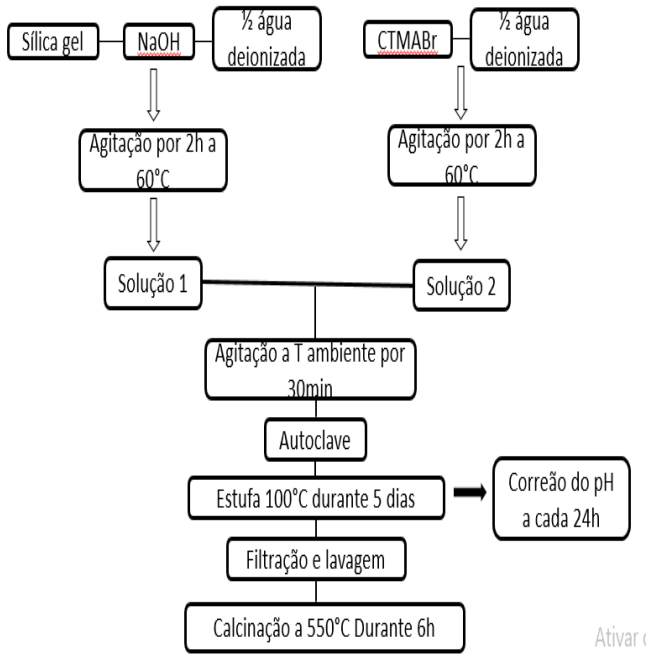
No óleo de oiticica foram realizadas as análises de densidade (por picnômetria), índice de acidez, índice de saponificação, água e sedimentos, ácidos graxos livres, índice de iodo, índice de peróxido, viscosidade cinemática e ponto de fulgor/combustão seguindo normas padrões (Santos, 2009; Oliveira, *et al.* 2012). Após a reação de biodiesel com o intuito de obter as principais características do biodiesel formado, foram realizadas as análises térmicas das amostras , o índice de acidez e e iodo, seguindo os procedimentos utilizados por Santos, (2009) e Oliveira, *et al.* (2012).

2.4. Síntese do MCM-41 e Impregnação do KI ao material

A síntese do catalisador MCM-41 foi proposto por Araújo *et al.* (2005), utilizando a

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

proporção entre os reagentes de 1,0 CTMABr. 1,0 NaOH. 4,0 SiO_2. 200,0 H_2O. Inicialmente, a síntese se processa com o uso de duas soluções preparadas separadamente. A figura 1 esquematiza a rota utilizada na síntese do MCM-41.



Fonte: autor, 2018.

Figura 1. *Esquema de representação da síntese do MCM-41*

2.4.1 Impregnação do material

As impregnações foram feitas com diferentes concentrações de KI sendo elas: 2,5 e 7,5%. Estes suportes foram impregnados pelo método via excesso de solvente com soluções aquosas de iodeto de potássio. Para tanto, 50 mL das soluções diluídas de iodeto de potássio, nas respectivas % em peso, foram misturados a 1,0 g de suporte. Em seguida, esse sistema teve sua água reduzida por meio de agitação, a 80 ºC, sob pressão ambiente durante 30 minutos. Em seguida o material foi seco em estufa a 100 ºC. Posteriormente o sólido impregnado foi calcinado a 500 ºC sob fluxo de ar (100 mL min^{-1}) por 3h.

2.4.1.1 Caracterização realizadas nos catalisadores obtidos (MCM-41 e %KI-MCM-41)

2.4.1.2 Difração de raios-X

Para confirmar se a estrutura típica dos materiais MCM-41 e a possível formação de óxidos no material, bem como alteração das estruturas causadas pela incorporação do KI se usou a técnica de difração de Raios- X. Foi utilizado o equipamento Rigaku modelo Mini Flex II, usando radiações de CuKα, em uma voltagem de 30 k/V e corrente de tubo de 30 m em baixo ângulo (2θ de 1º a 10,0º.). Foi utilizado o método do pó, sendo as amostras previamente pesadas para então serem analisada

2.4.1.3 Adsorção e dessorção de N_2 (BET e BJH)

A análise de Adsorção/dessorção de Nitrogênio foi realizada utilizando os métodos BET e BJH para estimar, a área superficial específica, volume de poro total dos catalisadores e diâmetro de poros e assim poder relacionar estas propriedades do MCM-41 puro com as mesmas propriedades nos catalisadores com o KI impregnado. O equipamento utilizado foi o modelo ASAP 2020 da Micromeritics. Antes de cada análise, os materiais foram, previamente, desgaseificados, por 10 horas a 300°C a vácuo. Após a desgaseificação, as amostras foram submetidas à adsorção de nitrogênio a 77 K para obtenção das isotermas, as quais foram realizadas na faixa de pressão relativa (P/Po) entre 0,0001 e 0,99.

2.4.1.4 Termogravimetria (TG/DTG)

A análise termogravimétrica (TG/DTG) foi realizada nos catalisadores com o intuito, principal, de acompanhar as perdas de massa das amostras de catalisador para se determinar a melhor temperatura para a calcinação e nos produtos da reação de esterificação para analisar a conversão de óleo em biodiesel. Para isso , cerca de 5 mg das amostras foram submetidas a um aquecimento de 25 a 900ºC para o catalisador e de 25 a 800ºC para biodiesel. Para ambos os processos se utilizou, uma razão de aquecimento de 10º/min, sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de 70 $mL.min^{-1}$. O equipamento utilizado foi STA 449 jupiter da Netzsch.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

3.1 Extração, Caracterização e Teor do Óleo de Oiticica

Segundo Oliveira, *et al.* (2012) as sementes de oiticica madura apresentam teor de óleo 65 %, sendo que o teor obtido para as sementes verdes neste trabalho foi de aproximadamente 35%. Esse resultado mostra que a semente verde tem, aproximadamente,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

50% a menos de óleo do que as sementes maduras. Mesmo assim, a semente verde já contém uma quantidade substancial de triglicerídeos, se comparada à outras oleaginosas, como, algodão (15%) e a soja (18%) que, atualmente, são utilizados na produção comercial de biodiesel (Araújo e colaboradores, 2010 (a). A tabela 1 mostra as propriedades físico-químicas do óleo extraído da semente verde em comparação com as mesmas propriedades do óleo da semente madura (Oliveira, *et al.* 2012), indicando diferenças notórias na qualidade dos óleos.

Tabela 1: *Caracterizações físico-químicas dos óleos extraído das sementes verdes e maduras de oiticica.*

A análise do índice acidez mostra que a acidez do óleo da semente verde é menor que o da semente madura. Apesar da sua acidez ainda estar elevada, se comparadas com oleaginosas como soja, algodão (Araújo *et al*. 2010 (B)) que possuem acidez mais baixa. Uma acidez alta indica uma intensa presença de ácidos graxos livres, e neste caso a matéria-prima deve passar por um tratamento prévio, para poder ter uma boa aplicação em transesterificações básicas. Essa alta acidez é confirmada no alto valor obtido para a análise de ácidos graxos livres (AGL), indicando que o óleo tem ácidos graxos livres em grande quantidade. Isso deixa claro a necessidade da realização de um procedimento de tratamento do óleo como hidrólise seguida de esterificação ou aumento da quantidade de catalisador para a produção de biodiesel. Apesar da acidez mais alta no óleo da semente madura, o AGL é menor indicando que o processo de amadurecimento altera a composição do óleo.

O índice de saponificação da semente verde é superior ao da madura, o que mostra que esta possui mais compostos de menor massa molecular conforme indicado pelo valor de AGL. Este resultado indica que a formação de compostos de maior massa molecular ocorre com o amadurecimento da semente.

O índice de iodo está diretamente relacionado com o total de insaturações de um material lipídico, ou seja, o índice de iodo aumenta com o aumento de insaturações (Bouaid *et al.* 2007). O valor alcançado para ambos os óleos indica a presença de duplas conjugadas, advindo do seu principal ácido graxo, o licânico. Foi notado que o óleo bruto tem predisposição à solidificação, em temperatura ambiente torna-se mais viscoso e em menores temperaturas separa-se em duas fazes de diferentes densidades e aspecto físico.

As viscosidades de óleos de oleaginosas possuem valores elevados, o que já é esperado, uma vez que apresentam cadeias grandes e de elevadas massas moleculares que facilitam o entrecruzamento e dificultam o movimento (Alptekin; Canakci, 2008). Não foi diferente com a oiticica, com o óleo sendo muito viscoso, o que pode complicar a reação de transesterificação, por dificultar a homogeneização, o que em geral é resolvido aumentando a razão óleo/álcool e fazendo reação heterogênea ou ácida.

Os resultados de densidade estão de acordo com os de índice de acidez e indicam que os compostos presentes no óleo das sementes verdes são menores e se empacotam melhor produzindo um óleo mais denso.

Os pontos de fulgor e de combustão confirmam as propriedades discutidas acima. Para estas propriedades quanto maior for o peso molecular, maior será a energia necessária para produzir uma faísca (fulgor) ou para entrar em combustão. Cabe ressaltar que valores muito elevados implicam em dificuldade maior na queima do combustível e trabalho do motor sob temperaturas mais altas, o que poderia refletir em maior desgaste das peças dos automóveis (Santos, 2010). Ambos os óleos estão isentos de água e sedimentos, o que é relevante, pois mostra que o pré-tratamento das sementes foi eficiente.

Através dos dados termogravimétricos do óleo da semente verde, pode-se observar na figura 2A (preto) que ocorreu uma única perda de massa referente à degradação/volatilização das misturas de ácidos graxos presente no óleo. A curva de DTG do óleo (3B preto) mostra um alargamento e a existência de um segundo evento térmico (ombro) que se sobrepõe ao pico principal,indicando a presença de compostos com diferentes funções químicas e ou tamanho de cadeia carbônica, ou seja, diferentes massas molares (MM). Por outro, os resultados das análises físico-químicas (acidez e viscosidade altas) sinalizavam para a necessidade de tratamento do óleo, assim realizou-se a sua hidrolise e repetiu-se as análises. Após hidrolise nota-se que a maior parte do material resultante possui uma temperatura de degradação/volatilização menor (ver figuras 2A e 2B), mas tem, também compostos com maior massa molar, o que indica que tem-se uma

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

mistura de ácidos graxos com pelo menos 4 compostos diferentes (perdas de massa com picos em 255°C, 350°C, 450°C, e região larga acima entre 500°C e 700°C), sendo que cerca de 5% deles só volatilizam acima 500°C e 15% entre 400°C e 500°C o restante aproximadamente 60% se volatiliza em aproximadamente 255°C e corresponde a maior quantidade de material.

Assim a esterificação foi feita com esta mistura de ácidos graxos obtida com a hidrólise do óleo de oiticica.

3.2. Caracterização dos catalisadores MCM-41, KI-MCM-41-2,5% e KI-MCM-41-7,5

Após a síntese do MCM-41 realizou-se a analise termogravimétrica com o intuito de saber a temperatura de calcinação. Ao analisar a figura 3(A) nota-se três perdas que se destacam, a primeira perda em torno da temperatura de 100º é referente, a perda água ou umidade no material, a segunda entre 200°C e 330ºC é referente a saída do direcionador orgânico e a terceira que se estende de 330°C a 600°C que também é devida a saída lenta de catalisador orgânico. Com base nessa analise realizou-se a calcinação a 550°C e o material resultante foi submetido a nova análise de forma a certificar a total retirada do direcionador orgânico. Como é mostrado na figura 3(B) não aparecem os eventos referente a saída do direcionar o que mostra a sua total retirada da estrutura.

No que se diz respeito a síntese do MCM-41, analise de difração de raio-X mostra que o catalisador apresenta os três picos de difração referentes aos planos de difração (100), (110) e (200), característicos do arranjo hexagonal de mesoporos unidimensionais da estrutura do MCM-41 (Figura 4)

A figura 5 apresenta os difratogramas de raio-x para os materiais impregnados com diferentes proporções de KI no catalisador mesoporoso MCM-41. Nota-se que a estrutura inicial do material é desorganizada, fato indicado pela ausência dos picos 110 e 200 e pelo deslocamento do pico principal para valores de 2θ maiores em relação ao catalisador puro, fato já registrado na literatura quando ocorre a inserção de materiais na estrutura de materiais mesoporosos. (Galvão *et al*. 2012). No entanto, a presença do pico principal (100) com forte intensidade indica que a mesma não foi destruída. Também se observa, que a medida que se insere KI ocorre alterações na intensidade do pico principal, que diminui com o aumento de KI, confirmando que ocorre desorganização da estrutura.

As caracterizações dos materiais via absorção/dessorção de N_2 (vide figura 6 e tabela 2) confirmam essa modificação e as suas consequências nas propriedades texturais dos catalisadores impregnados.

A análise textural dos materiais impregnados indica que os mesmos possuem isotermas do tipo IVa com histerese do tipo H1 encontrada em materiais que exibem uma faixa estreita de mesoporos uniformes. As propriedades variam, de forma geral de acordo com o aumento da porcentagem de KI inserido, aumentando o tamanho dos poros e diminuindo o volume e a área específica como mostra a figura 7 e a tabela 2. Estes dados podem ser resultado do entupimento dos poros com o aumento de KI no suporte que causa uma deformação dos poros.

Tabela 2. *Propriedades texturais dos catalisadores s obtidos*

3.3. Caracterizações realizadas nos biodieseis

As figuras 8 A e B mostram os resultados sobrepostos de TG e de DTG para o óleo de oiticica, os produtos obtidos nas reações de esterificação com 2,5 e com 7,5% de KI, para o produto da transesterificação e repete a curva para a mistura de ácidos graxos obtida do óleo da oiticica (Figura 2) com as suas 4 perdas de massas já discutidas. Na tabela 3 são observadas as temperaturas, as perdas de massas e o material residual para os materiais analisados.

Comparando as curvas de DTG do óleo com as curvas do ácido graxo obtido observa-se que o óleo tem três compostos, os quais apresentavam perda de massa em baixas temperaturas, 250 a 300 °C (3 % de perda), em 395 (95%) e uma pequena perda de 2% (ombro do pico principal) na temperatura de 450 °C. A hidrólise retira compostos que se situam na faixa de 150 a 350°C (70% de perda) e compostos de maior massa molar na faixa de 350 a 400ºC (10% de perda), de 400 a 510ºC (17% de perda) e de 510 a 650°C (3% de perda). A faixa de perda massa do pico principal (pico e ombro) tem sido identificada na literatura como sendo devido a degradação/volatilização de ácidos graxos. A comparação das curvas do óleo e dos ácidos

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

graxos com as curvas do material transesterificado ou esterificado mostram claramente que a transesterificação e a esterificação ocorrem, o que é indicado pelo aparecimento de picos em temperaturas bem menores que as temperaturas do óleo (395°C) para a transesterificação (251°C) e temperaturas ligeiramente menores que a dos ácidos graxos (255°C) para os produtos de esterificação (245°C).

Tabela 3. *Perdas de massa das amostras transesterificadas, esterificadas e materiais de partida*

O segundo pico (região de 350°C) aparece mais claro e, também, ligeiramente deslocado para a esquerda se comparado com o ácido graxo, indicando que, também, pode ser devido a biodiesel com cadeias carbônicas maiores e ou com estruturas diferentes (duplas ligações), o que é coerente com a existência de compostos de maior MM nos ácidos graxos e com o fato deste óleo se separar em duas fases na temperatura ambiente. O aumento de KI diminui a % de material perdido nessa faixa e causa o aparecimento de duas perdas de massa nas faixas de temperatura de 266 – 317°C e 317 - 379°C. O terceiro pico continua existindo, mas ao contrário dos anteriores não altera sua posição (aproximadamente 450°C) com nenhuma das reações realizadas (hidrólise, transesterificação e esterificação) o que indica que são compostos já existentes no óleo e que são inertes e permanecem na mistura sem reagir.

O quarto pico continua existindo na mesma faixa de temperaturas (500 a 700°C), mas a sua intensidade é aumentada com o aumento da porcentagem de KI, indicando que esse material pode dar características ao catalisador de formar ligações de maior massa molar. O aumento da quantidade de KI para 7,5% proporciona um evento adicional na região próxima a 260°C, diminui a quantidade de material perdido no pico principal e aumenta a quantidade de material próximo de 330°C e na região de alta temperatura, além de aumentar muito a quantidade de material de alta MM. Assim o KI atua facilitando a quebra de cadeias na dupla ligação e posterior ligação dessas cadeias formando moléculas de maior MM.

Estes resultados são coerentes com a diminuição dos índices de iodo e de acidez medidos no óleo, ácido graxo e produtos de esterificação (tabela 4) e indicam que está ocorrendo além da esterificação, também, a quebra de cadeias dos ácidos graxos que, posteriormente, voltam a se ligar formando cadeias maiores, o que aumenta a temperatura de volatilização no qual o KI age catalisando este processo e aumento da quantidade de compostos de maior MM.

Tabela 4*. Caracterizações realizadas no biodiesel*

As porcentagens de resíduos confirmam estes resultados e mostram que a transesterificação do óleo bruto (3,69%) aumenta a porcentagem de resíduos (4,98%) devido a formação de compostos de alta MM não volatizáveis durante o próprio experimento e a existência de compostos de alta MM no óleo. A hidrólise limpa o óleo desses compostos de alta MM e produz compostos de 4 tamanhos de MM, todos totalmente volatizáveis, não produzindo nenhum resíduo (0%). A esterificação com 2,5% de KI produz 2,04% de resíduos indicando que o KI em pequenas quantidades catalisa a formação de compostos de alta MM, mas o aumento de KI (7,5%) reduz novamente os resíduos a zero, indicando que ela também catalisa a quebra de compostos de alta MM em compostos menores. Resultados semelhantes desta variação da MM com o catalisador foram obtidos em experimentos de termogravimetria de óleo de palma (Santos *et al.* 2014) tratados por diferentes tempos em diferentes temperaturas, indicando que essas quebras e formação de ligações devem ocorrer no óleo em função de variáveis como tempo ou temperatura.

Assim, o produto final obtido nas esterificações, provavelmente é uma mistura composta em sua maioria (aproximadamente 90% para 2.5% de KI e 82% para 7,5% de KI) de uma mistura de diferentes ésteres e de outros compostos não identificados de alta massa molar que já existiam no óleo inicial ou foram formados durante o experimento devido à quebra e formação de novas ligações no material. O catalisador KI atua facilitando a aumento da quantidade de compostos de alta MM que ocorre durante o experimento.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

CONCLUSÕES:

As impregnações realizadas não causaram a destruição da estrutura mesoporosa do MCM-41. As propriedades físico-químicas do óleo da semente verde e madura são de qualidades distintas e indicam que o óleo deve ser purificado antes de ser esterificado. O KI catalisa a reação de esterificação nas duas proporções de catalisador usada, sendo que foi observado que, além da esterificação que é a reação principal, ocorre quebras e formação de novas cadeias, o que altera a constituição/composição do produto obtido com a variação do KI, o que é indicado pelas alterações tanto das medidas físico-químicas (índice de acidez e de iodo) quanto pelas analises térmicas. Observa-se que o aumento da% de KI provocou um aumento da massa molar dos compostos e aumentou a fração deles na mistura, diminuindo a quantidade de ésteres formados de aproximadamente 90% para 82% respectivamente

AGRADECIMENTOS:

Ao CNpq pelo fomento da bolsa.

Ao Laboratório de Catalise Ambiente e Materiais (LACAM) da UERN.

REFERÊNCIAS:

1. Beltrão; N.E.M. E. OLIVEIRA; M.I.P. N.177, Oleaginosas potencias do nordeste para produção de biodiesel, Documentos MAPA Campina Grande - PB, **2007**.
2. Cantrell D.G., Gillie Lisa J., Lee Adam F., Wilson Karen., Structure reactivity correlations in MgAl hydrotalcite catalysts for biodiesel synthesis Appl. Catal. A: **2005** Gen. 287, 183–190.
3. Castro, K.K.V. Sintese, caracterização e aplicação do MCM-41 E Al-MCM-41 na pirolise do resíduo atmosférico de petróleo, dissertação de mestrado, UFRN, Natal-RN, **2010**.
4. Cordeiro C. S. *et al.* Catalisadores heterogêneos para a produção de monoésteres graxos (biodiesel) Quim. Nova, **2011,** Vol. 34, No. 3, 477-486, Paraná.
5. Di serio, M.; Tesser, R.; Pengmei, L.; Santa Cesaria, E.; *Energy Fuels* **2008**, *22*, 207.
6. Gallo, J. M. R. Síntese e caracterização de [Nb]-MCM-41 e NbxOy(OH)z-Montmorilonita e aplicações em catalise redox e ácida. Dissertação de mestrado, UNICAMP, São Paulo 2005
7. Galvão, L. P. F. C. *et al*. Iodeto de potássio suportado em peneiras moleculares mesoporosas (SBA-15 e MCM-41) como catalisador básico para síntese de biodiesel Quim. Nova, Vol. 35, No. 1, 41-44, **2012**.
8. Garcia, C. M. *et al.* Transesterification of soybean oil catalyzed bysulfated zirconia.; Bioresour. Technol*.*, *99*, 6608, **2008.**
9. Ghesti, G. F. *et al*. Produção de biodiesel via transesterificação etílica com zeólitas básicas Quim. Nova, Vol. 35, No. 1, 119-123, **2012**.
10. Helwani Z. *et al*. Solid heterogeneous catalysts for transesterification of triglycerides with Applied Catalysis A: General 363 **2009** 1–10.
11. Li, H.; Xie, W. Transesterification of soybean oil to Biodiesel with Zn/I2 catalyst Catalysis Letters. vol.107, n° 1-2, 25-30, **2006**.
12. Monteiro, J. M. G.; Plantio de Oleaginosas por Agricultores Familiares do Semiárido Nordestino para Produção de Biodiesel como uma Estratégia de Mitigação e Adaptação às Mudanças Climáticas. Tese (Doutorado), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, **2007**.
13. Oliveira, F. A. G. *et al*. Síntese, caracterização e avaliação de biodiesel de óleo de oiticica (*Licania rigida Benth*) e isolalamento do éster metílico do ácido licânico Química: ciência, tecnologia e sociedade Vol. 1, No. 1 **2012** Mossoró-RN.
14. Paulillo, L. F.; Vian C. E. de F.; Shikida, P. F. A.; Mello, F. T. Álcool combustível e biodiesel no Brasil: *quo vadis*? Rev. Econ. Sociol.Rural vol.45 no.3 Brasília July/Sept **2007**.
15. Peterson, C. L.; Hustrulid, T.; Biomass and Bioenergy **1998**, 14, 91

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

16. Pinto, G. P. - Características físico-químicas e outras informações sobre as principais oleaginosas do Brasil. Recife: Instituto de Pesquisa e Experimentação Agropecuárias do Nordeste. **1963**. 83 p. (Boletim Técnico, 18)

17. Ramalinga K.; Vijayalakshmi P.; KaimaL T. N. B. A mild and efficient method for esterification and transesterification catalyzed by iodine. Tetrahedronletters. vol. 43, no5, 879-882, **2002**.

18. Rani, V. R.; Kishan, M. R.; Kulkarni, S. J.; Raghavan, K. V., Immobilization of metalloporphyrin complexes in molecular sieves and their catalytic activity Catalysis Communication v. 6, p. 531- 535, **2005**.

19. Ranucci, C. R., Alves, H. J., Silva, C., Monteiro, M. R., Andressa, K., Baricciatti, R. A., & Antonio, E. (2015). Obtaining biokerosene of jatropha (Jatrophacurcas L.) and their mixtures to fossil kerosene. Revista Tecnológica - Edição Especial **2014**, 43–52.

20. Soldi R.A. *et al*. Soybean oil and beef tallow alcoholysis by acid heterogeneous catalysis/ Applied Catalysis A: General 361, **2009**, 42–48.

21. Serio, M. Di; *et al.* Transesterification of Soybean Oil to Biodiesel by Using Heterogeneous Basic Catalysts *Ind. Eng. Chem. Res*. **2006**, *45*, 3009.

22. Tapanes, N. A. D. A. G; Perez R. S.; CRUZ Y. R. Biodiesel no brasil: matérias primas e tecnologias de produção, AS&T V.1, N 1, Rio de Janeiro, 2013.

23. Tapanes, N. C. O. Produção de biodiesel a partir da transesterificação de óleo de pinhão manso (jatropha curcas lin): estudo teórico e experimental, tese de doutorado, UFRJ, Rio de Janeiro-RJ**, 2008**.

24. Zhang, Y.; Dubé, M. A.; Mclean, D. D.; Bioresour. Technol. **2003**, 89, 1. 3. (Quim. Nova, Vol. 34, No. 3, 477-486.

25. Wang, Y. M.; Wu, Z. Y.; Wei, Y. L.; Zhu, J. H.; Microporous Mesoporous Mater., 84, 127, **2005**.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 1: *Caracterizações físico-químicas dos óleos extraído das sementes verdes e maduras de oiticica*

Análise	Semente Verde	Semente Madura (Oliveira, 2012)
Teor de óleo (%)	35%	65%
Índice de acidez (mg KOH/g)	1,39	1,53
Ácidos Graxos Livres (%)	6,43	0,421
Índice de saponificação (mg KOH/g)	198,39	162,41
Índice de Iodo (g de iodo /100g)	42,435	43,58
Índice de peróxido (mEq/Kg)	79,27	-
Viscosidade Cinemática (mm^2/s)	23,075	-
Ponto de Fulgor	231	-
Ponto de combustão (°C)	315	-
Água e sedimentos (%)	-	0
Densidade (g/cm^3)	0,9515	0,949

Tabela 2. *Propriedades texturais dos catalisadores s obtidos*

Amostras	Dp (nm)	Vp ($cm^3\ g^{-1}$)	S_{BET} ($m^2\ g^{-1}$)
MCM- 41	2,19	0,75	902
2,5 % KI- MCM-41	3,45	0,43	538
7,5 % KI- MCM-41	4,03	0,32	331

Tabela 3. *Perdas de massa das amostras transesterificadas, esterificadas e materiais de partida*

AMOSTRAS	T(°C)	T máx (°C)	PERDA DE MASSA (%)	MASSA RESIDUAL (%)
ÓLEO	240 - 507	395	96,31	3.69
TRANSESTERIFICAÇÃO	107 – 280	251	33,77	4,98
	280 – 400	349	44,45	
	400 – 502	428	16,92	
ÁCIDOS GRAXOS	130 - 320	255	63,15	-
	388 - 491	439	18,46	
	507 - 705	584	18,39	
Biodiesel 2,5%	123 – 302	245	44,52	
KI- MCM-41	302 - 428	352	33,13	2,04%
	428 – 491	449	10,75	
	527 - 710	623	9,81	
Biodiesel 7,5%	119 – 266	245	26,28	
KI- MCM-41	266 - 317	284	16,85	0%
	317 – 379	339	16,70	
	379 – 493	438	20,60	
	493 - 658	573	19,71	

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

***Tabela 4**. Caracterizações realizadas no biodiesel*

KI-MCM-41	INDICE DE ACIDEZ (mg KOH/g)	INDICE DE IODO (g de iodo /100g)
Óleo Bruto	1,39	42,43
Ácidos Graxos	186,26	20,52
Reação 2,5%	125,14	31,70
Reação 7,5%	103,24	20,52

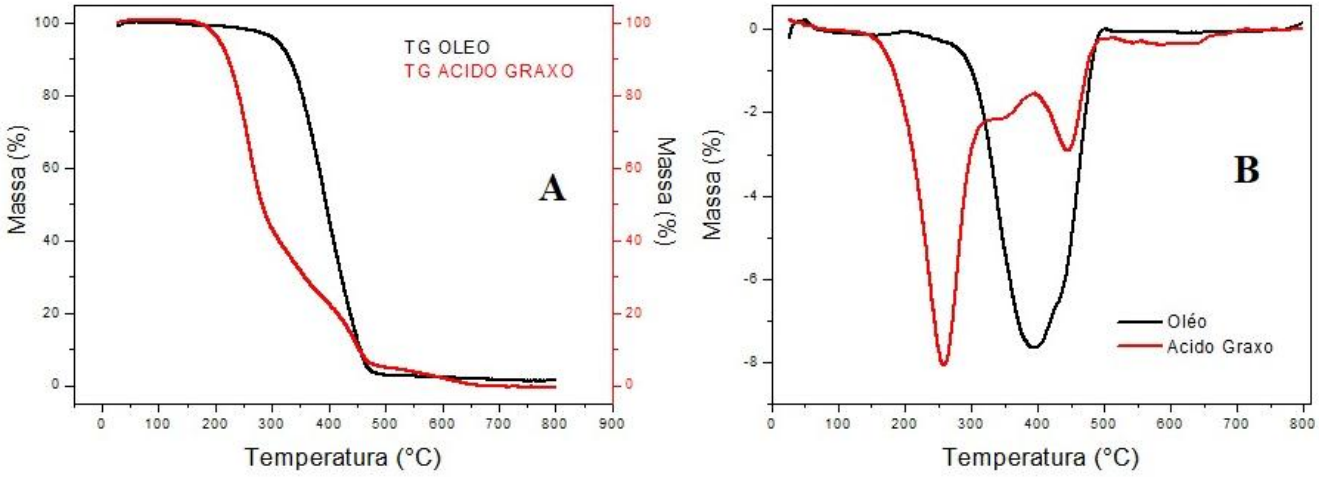


***Figura 2. A e B -** TG DTG do óleo e ácido graxo de Oiticica*

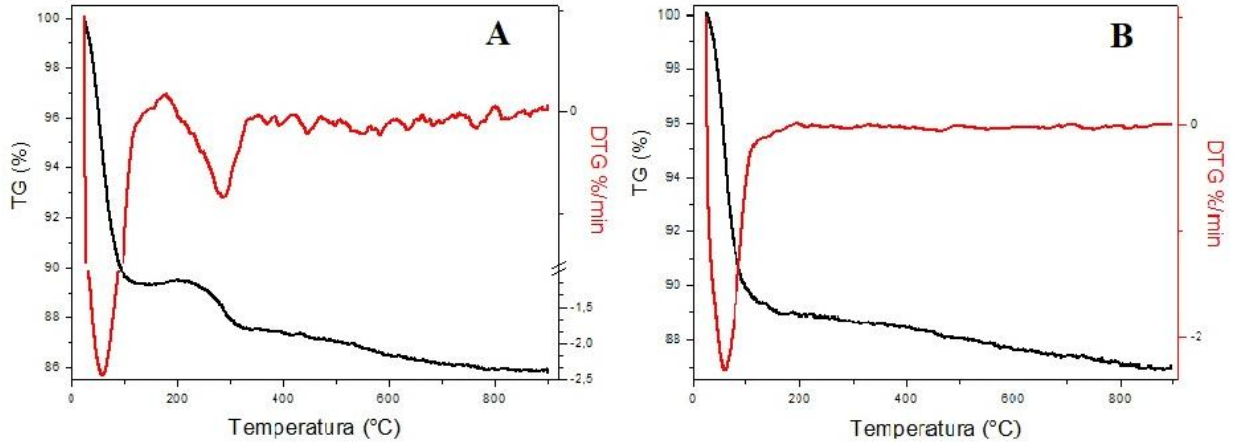


***Figura 3. A -** TG DTG do MCM-41 não calcinado **B -** TG DTG do MCM-41 calcinado*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

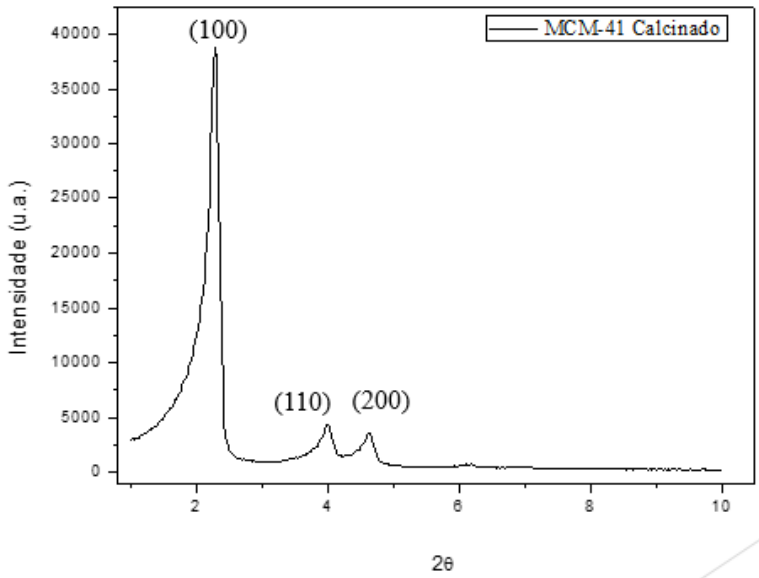


Figura 4. *DRX do catalisador MCM-41 calcinado*

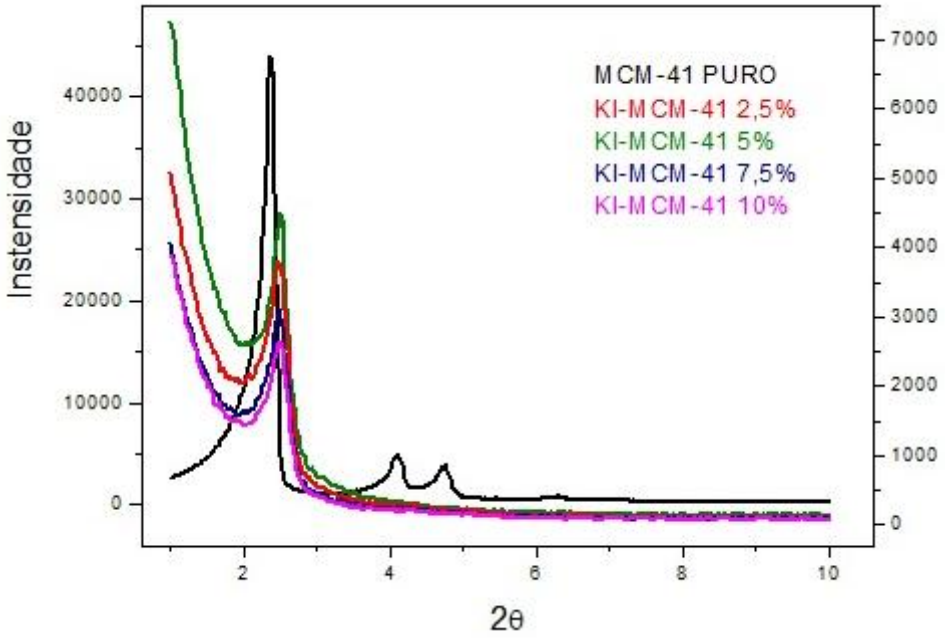


Figura 5. *DRX do MCM-41 e amostras impregnadas*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

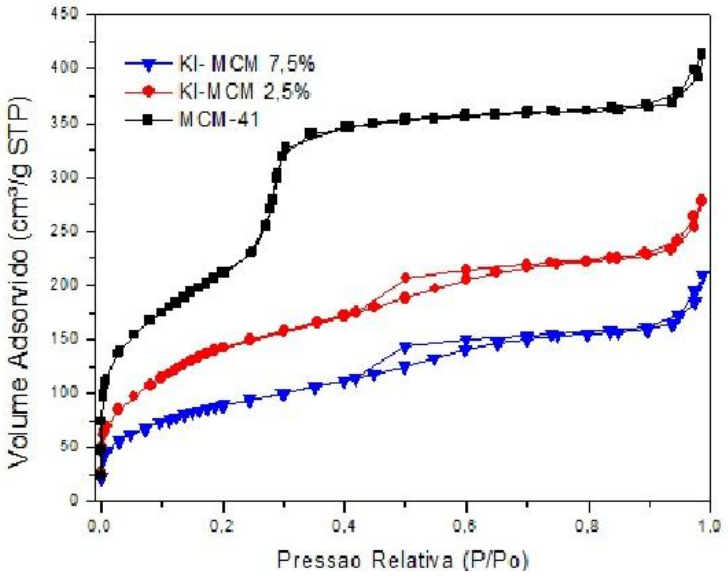


Figura 6. *Curvas de adsorção-dessorção do material puro e impregnados com KI*

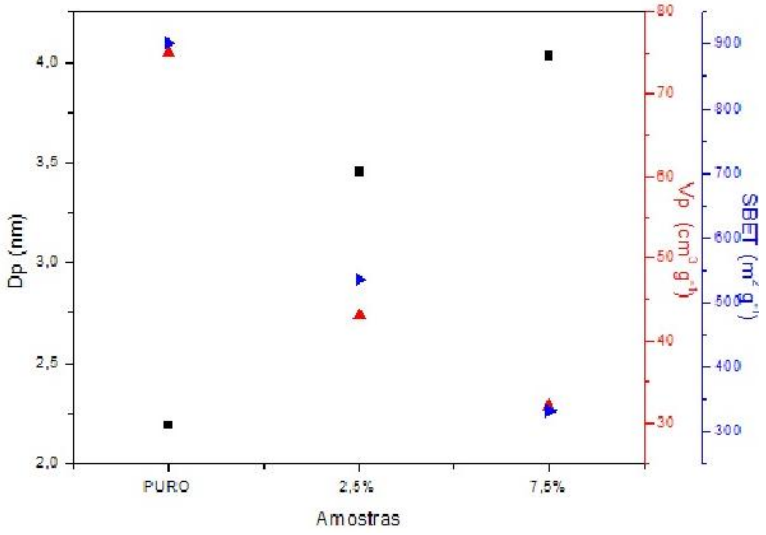


Figura 7. *Propriedades texturais dos materiais obtidos*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

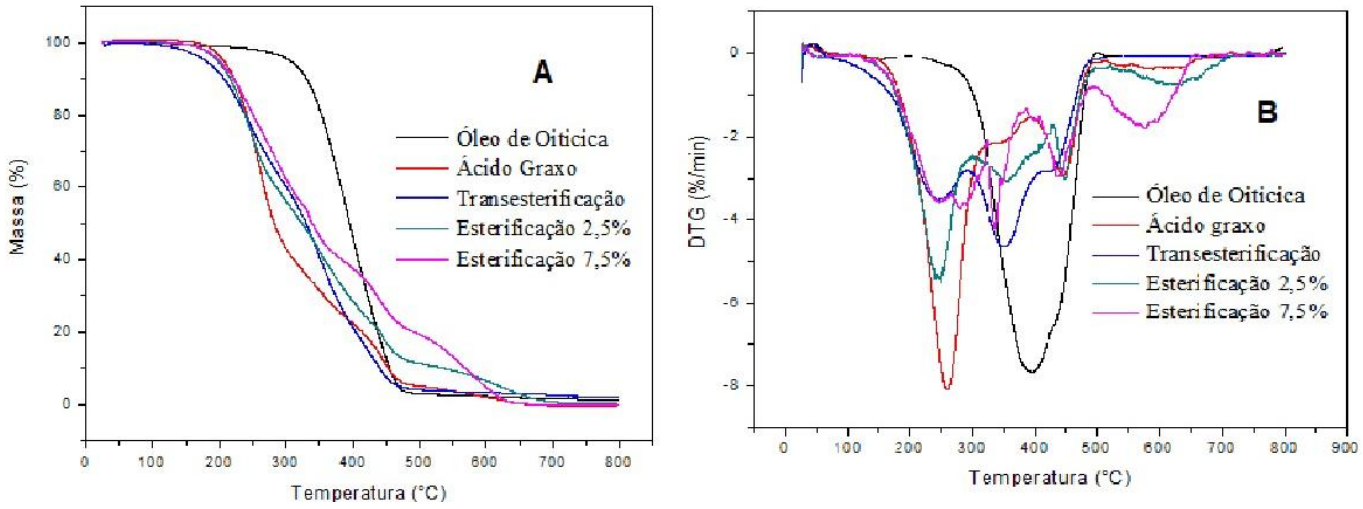


Figura 8. A e B - *Curvas TG-DTG do óleo, ácido graxo, transesterificação e esterificação com 2.5 e 7.5% de KI*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ANÁLISE DA USINABILIDADE DA LIGA AL-1,2%Pb SOLIDIFICADA EM UM DISPOSITIVO DIRECIONAL HORIZONTAL

MACHINABILITY ANALYSIS OF AN AL-1,2% Pb ALLOY SOLIDIFIED IN A HORIZONTAL DIRECTIONAL DEVICE

NASCIMENTO, Jacson Malcher[1]; BARROS, Regiane Socorro[1]; KONNO, Camila Yuri[2]; SILVA, Adrina Paixão[1]*; ROCHA, Otávio[1,3]; MOREIRA, Antônio Seabra[1]

[1] Universidade Federal do Pará, Faculdade de Engenharia Mecânica, Rua Augusto Corrêa, 01, cep 66075-110, Belém – PA, Brasil
(fone: +55 91 3201 7251)

[2] Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Mecânica, Rua Mendeleyev, 200, cep 13083-860, Campinas – SP, Brasil
(fone: +55 19 3521 3226)

[3] Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará, Curso de Engenharia de Materiais, Av. Almirante Barroso, s/n, cep 66093-020, Belém – PA, Brasil
(fone: +55 91 3201 1701)

** Autor correspondente*
e-mail: adrina@ufpa.br

Received 26 September 2018; received in revised form 22 October 2018; accepted 23 October 2018

RESUMO

De maneira geral, as ligas monotéticas binárias são caracterizadas pela solubilidade mutualmente limitada no estado líquido, o que confere às mesmas um comportamento tribológico beneficiado como a resistência ao desgaste. Pesquisas em relação ao desenvolvimento microestrutural de ligas monotéticas durante condições de fluxo de calor transitório são de fundamental importância, uma vez que engloba a maioria dos processos industriais de solidificação. Contudo, a correlação entre parâmetros microestruturais e propriedades mecânicas para ligas monotéticas são pouco exploradas e praticamente nulas, e a modificação da microestrutura pode afetar significativamente tais propriedades, melhorando ou inviabilizando sua utilização nos processos a que se destinam. Neste contexto, o presente estudo consiste em investigar e correlacionar variáveis térmicas de solidificação e parâmetros estruturais como microdureza e usinabilidade (temperaturas de corte, desgaste de ferramenta, rugosidade da peça usinada) da liga Al-1,2%Pb, solidificada em regime transitório em um dispositivo direcional horizontal. Observou-se que os resultados de temperatura de corte e desgaste e ferramenta se complementam quando correlacionados com posição e espaçamento interfásico, indicando que para menores espaçamentos interfásicos a adição de chumbo ao alumínio prejudica a usinabilidade deste.

Palavras-chave: *Desgaste de ferramenta, temperatura de corte, liga monotética, solidificação horizontal, Regime Transiente.*

ABSTRACT

In general, the binary monotectic alloys are characterized by the limited solubility in the liquid state, which gives them a benefited tribological behavior such as wear resistance. Researches regarding the development of monotectic alloy microstructures during the unsteady-state heat flow conditions are fundamental, as it encompasses most of the solidification industrial processes. However, the microstructural relationship between the mechanical properties of monotectic alloys is little explored and practically nil. In this context, the present study consists of investigating and correlating solidification thermal variables and structural parameters such as microhardness and machinability (cutting temperatures and tool wear) of Al-1.2wt% Pb alloy, in a horizontal directional device. It was observed that

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

the cutting temperature and tool wear results complement each other when correlated with position and interphase spacing, indicating that for smaller interphase spacings the addition of lead harms machinability.

Keywords: *Tool Wear, Cutting Temperature, Monotectic Alloy, Horizontal Solidification, Transient Regime*

INTRODUÇÃO

A quantidade de pesquisas sobre ligas monotéticas são ínfimas, mas esse tipo de liga, onde as partículas de soluto apresentam-se dispersas em matrizes do solvente apresentam melhorias nas propriedades mecânicas, podendo ser citada assim a liga Al-Pb, onde benefícios são agregados ao alumínio com a adição do chumbo dentre outras vantagens como sua menor rigidez, menor custo e maior acessibilidade que o estanho, usado para os mesmos fins (Gouthama, Rudrakshi e Ojha, 2007).

Além disso, o chumbo apresenta baixo ponto de fusão, 327°C, comparado ao Alumínio, 660°C, o que reduz a dureza da liga, porém melhora o desempenho frente ao desgaste abrasivo por conta da fluidez que facilita as condições de deslizamento, resultando em comportamento tribológico favorável para a utilização em processos de fabricação de componentes automotivos (Silva et al., 2012; Silva, Spinelli e Garcia, 2014).

Sabe-se também que a presença de elementos de corte livre (*free-cutting elements*), como chumbo em teores de 0,1 a 1,0 % (em peso) combinados com velocidades de corte adequadas na furação de ligas de alumínio podem resultar em uma redução significativa de energia, pois promovem baixa adesão e facilitam a remoção de cavacos (Dasch et al., 2009). Esta afirmação pode ser estendida a outros processos de usinagem. Embora o uso de chumbo seja regulado/regulamentado pela toxicidade, de acordo com Lohse, Sander e Wirts (2001), um teor máximo de chumbo de 1% para o alumínio para fins de usinagem foi considerado suficiente e permitido em peças automotivas.

A literatura indica que o processo de solidificação tem grande influência na estrutura, esta, nas propriedades, como aspectos da usinabilidade (temperaturas de corte, desgaste de ferramenta, rugosidade da peça usinada) e, por conseguinte, no desempenho (Konno et al., 2016). Sendo assim, com as crescentes exigências da indústria moderna por materiais com boas propriedades e com melhor facilidade de usinagem, o controle da cinética do processo de solidificação de metais e ligas metálicas vem a cada dia se consolidando como um objeto de estudo de extrema importância para a obtenção de materiais com propriedades homogêneas e cada vez mais adequadas à sua utilização prática (Garcia, 2007). Deste modo, é essencial a abordagem de algumas metodologias utilizadas no estudo do referido fenômeno destacando-se, por exemplo, a técnica da solidificação direcional em regime transiente de extração de calor, que engloba a maioria dos processos industriais. Neste sentido, este trabalho apresenta uma análise da microdureza e usinabilidade (pelos critérios de temperatura de corte e desgaste de ferramenta) da liga Al-1,2% Pb solidificada em um dispositivo direcional horizontal, estabelecendo uma correlação entre tais propriedades as variáveis térmicas de solidificação e parâmetros macro e microestruturais.

MATERIAIS E MÉTODOS

A liga monotética utilizada foi a do sistema Al-Pb (Al-1,2%Pb), apresentada por Konno et al. (2016). Conforme Figura 1 que apresenta o diagrama de equilíbrio parcial, com a composição da liga estudada.

O procedimento metodológico utilizado neste trabalho foi dividido em cinco etapas: Solidificação horizontal, Análise dos dados térmicos, Metalografia, Análise metalográfica e correlações, Análise das propriedades mecânicas: Hv, Usinabilidade e Correlações.

O aparato de fundição usado no experimento de solidificação encontra-se bem descrito na literatura (Silva et al., 2009; 2011). Seu design permite a extração de calor somente através do sistema resfrigerado a água colocado em uma das paredes laterais do molde, promovendo solidificação direcional horizontal. O molde de aço carbono utilizado tinha uma espessura de parede de 3 mm, comprimento de 110 mm, altura de 60 mm e largura de 70 mm. As superfícies laterais internas do molde foram cobertas com uma camada de alumina isolante e

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

a parte superior do molde foi fechada com material refratário para evitar perdas de calor. A condição de contato térmico na interface metal/molde também foi padronizada com a superfície de extração de calor sendo polida.

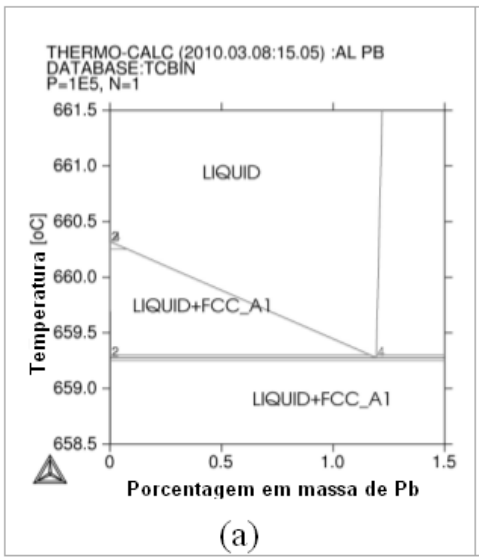


Figura 1 *– Diagramas de fases parcial do sistema Al-Pb (Thermo-Calc).*

Fonte: Adaptado de Sundman e Chen, 1995

No que diz respeito ao processo de solidificação em si, a liga estudada foi fundida em um forno tipo mufla e então vazada no dispositivo de solidificação direcional horizontal e, em seguida, levada até temperaturas correspondentes a 5% acima de sua temperatura *liquidus*. A partir de então, com o sistema de monitoramento da temperatura no interior da lingoteira, fez-se atingir a temperatura de vazamento (T_V) e logo foi ativado o sistema de refrigeração à água apenas por uma face da lingoteira, forçando então o metal a ser solidificado na direção horizontal em regime transiente. Durante todo o processo, os termopares, posicionados estrategicamente no interior do lingote (a 5mm, 10mm, 20mm, 30mm, 40mm e 50mm a partir da interface refrigerada), acoplados a um sistema de aquisição de dados, fazem a leitura da temperatura e registram o histórico térmico. Estes registros então são processados e organizados em planilha e as temperaturas e os tempos de cada termopar são plotados, originando os perfis de temperatura. Além disto, obtém-se o tempo (t) em que a isoterma *liquidus* passou por cada termopar. A partir deste gráfico é possível calcular a taxa de resfriamento ($\dot{T}$) como mostra a Figura 2 e um gráfico de P com t, que possibilita a obtenção de uma equação experimental em forma de potência cuja derivada resulta na velocidade da frente monotética (V_M).

O lingote resultante foi seccionado ao meio na mesma direção de extração de calor durante a solidificação. Em seguida, um dos lados foi mecanicamente lixado com materiais abrasivos de granulometrias crescentes entre 80 a 1200 mesh e, posteriormente, atacado quimicamente com Reagente Keller, a fim de possibilitar a revelação de sua macroestrutura. Finalmente, a posição da TCE foi localizada na referida amostra por meio de observação visual, tendo a distância existente entre a mesma e a interface metal/molde sido medida através de régua milimetrada. Os corpos de prova utilizados para a análise micrográfica foram retirados do lingote seccionado longitudinalmente na região de altura média do lingote (onde a extração de calor foi realizada de maneira mais eficiente dando maior direcionalidade ao processo) em três amostras que compreendem as posições 5mm, 10mm, 15mm, 20mm, 25mm, 30mm, 35mm, 40mm, 45mm, 50mm e 55mm como mostra a Figura 3.

As ligas do sistema Al-Pb apresentam certa dificuldade de preparação para metalografia, em virtude de o chumbo ser um metal de baixa dureza, o que dificulta a preparação das amostras para análise microestrutural. Sendo assim, as amostras foram lixadas apenas em de granulometrias de 400, 600 e 1200 mesh e polidas. Para a revelação das microestruturas da liga, foi utilizado 0,5% HF diluído em água, como reagente químico. Em seguida, foram realizadas análises microscópicas.

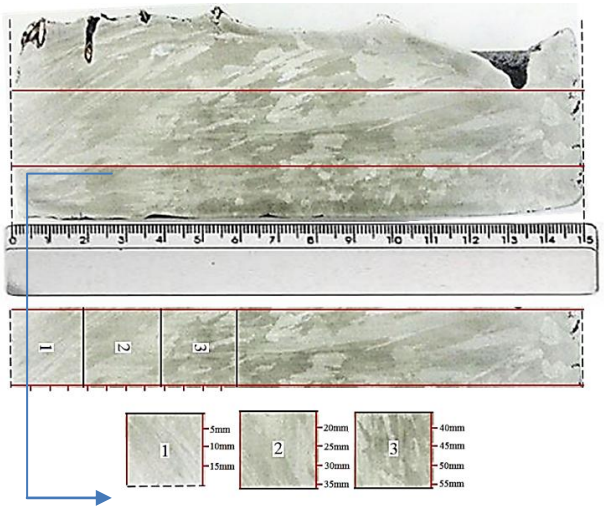


Figura 3 – *Cortes realizados no lingote.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

As condições de solidificação com fluxo de calor transitório impõem um crescimento bastante irregular, principalmente no início do processo. No caso de estruturas monotéticas, onde as condições de solidificação com fluxo de calor transitório impõem uma estrutura com o chumbo em partículas, as medições foram feitas a partir das amostras longitudinais, pela média da distância horizontal entre partículas ricas em soluto, adotando como referência o centro de cada partícula (λ), assim como os métodos utilizados por Silva et al. (2012). Para estes casos, foram feitas em média 50 medições para cada uma das posições escolhidas na medição dos espaçamentos interfásicos e sua margem de distribuição.

Os ensaios de microdureza foram realizados utilizando-se uma carga de 490,5 Kgf e tempo de aplicação da força de 10 segundos. Foram efetuadas em média 20 medições para cada uma das posições selecionadas. Sendo assim, os dados de microdureza obtidos foram correlacionados com parâmetros estruturais na forma de gráficos gerando expressões experimentais do tipo potência e no formato Hall-Petch.

1 Técnica de medição de temperatura de corte

Para a medição de temperatura de corte foram realizados seis processos de sangramento ao longo do lingote. A verificação não é usual para operações de usinagem, mas como não havia processo de torneamento para alterar a geometria da seção transversal de retangular para circular a fim de evitar a recristalização e modificação da macroestrutura do lingote, a profundidade da penetração adotada foi toda a dimensão da seção, caracterizando o processo de verificação. Este é um tipo usual de teste de usinabilidade (Machado et al., 2011).

Devido às perdas de material que ocorrem durante o processo de corte, à espessura do bedame, às vibrações do processo e assim por diante, não foi possível fazer a verificação nas mesmas posições em que o espaçamento foi medido. Sendo assim, uma amostra do lingote de secção transversal 14x16 mm foi dividida em seis faixas de posições para executar os sangramentos, conforme Tabela 1.

Tabela 1 – *Faixa de posições a partir da interface metal/molde para o sangramento da liga Al-1,2%Pb*

Corpo-de-prova	Faixa de medida
1	0 a 10 mm
2	11 a 20 mm
3	21 a 30 mm
4	31 a 40 mm
5	41 a 60 mm
6	61 a 80 mm

Uma técnica de medição já consolidada na literatura (Silva e Wallbank, 1999; Davies et al., 2007; Abukhshim, Mativenga e Sheikh, 2006) foi seguida. Portanto, utilizou-se um termômetro infravermelho digital, posicionado que maneira que o ponto de registro de dados esteja direcionado sempre à zona de corte, acoplado a um computador com um software de aquisição de dados. Para tanto, o processo foi realizado a seco, para que não se interfira na geração de calor durante o processo (Haddag e Nouari, 2013). Conforme a Figura 4 é possível ver o termômetro posicionado para a aquisição de dados térmicos bem como a amostra fixada à castanha do torno e o bedame na posição de corte.

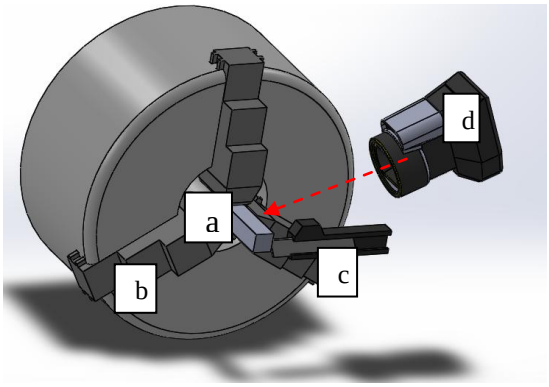


Figura 4 – *a) Amostra; b) castanha do torno; b) bedame acoplado; c) porta-bedame na posição de corte; d) termômetro.*
Fonte: Silva et al., 2018

A Figura 5 foi adaptada de Diniz, Marcondes e Coppini (2013) e representa a região de aquisição das temperaturas do sangramento, onde pode-se notar a leitura da temperatura sendo realizada na região interface tripla: peça-ferramenta-cavaco. Vale observar

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

que o termômetro fica a uma distância de aproximadamente 800 mm dessa interface, dentro da faixa de resolução deste. O termômetro infravermelho utilizado permitiu a medição da temperatura de corte ao durante cada sangramento realizado.

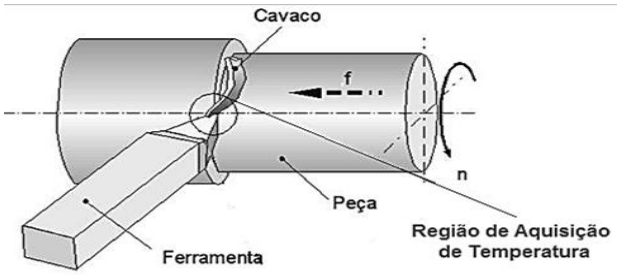


Figura 5 - *Esquema da região de aquisição das temperaturas do sangramento.*
Fonte: Adaptado de Diniz, 2013.

Os procedimentos de sangramento (corte da amostra em um único passe), foram executados em um torno convencional, por conta da se sua grande aplicação do mesmo em escala industrial. Para a ferramenta, foi utilizado bedame convencional HSS T6 (Santos Jr et al., 2016), com polimento e afiação de fábrica. É importante salientar que cada sangramento foi utilizado um bedame novo, para que fossem mantidas as mesmas condições de usinagem para cada um dos seis processos realizados.

Parâmetros de usinagem são função do processo de usinagem escolhido, da máquina ferramenta, do tipo de material a ser usinado e da ferramenta de corte utilizada. Os parâmetros de corte relacionados ao processo de usinagem e com a máquina ferramenta são a velocidade de corte, avanço e profundidade de corte. Para a ferramenta de corte, os parâmetros são o material, a forma e a geometria da ferramenta e para o material a ser usinado, a composição química, dureza e tipo de tratamento superficial. Com a união dos parâmetros (processos de usinagem, máquina ferramenta, ferramenta de corte, material) avalia-se, em tempo real, como se comporta a operação de usinagem. Para o experimento em questão, além dos parâmetros de usinagem já relatados, adotou-se o avanço de 0,1 mm/rot, velocidade de corte de 47m/min, profundidade de corte variável, de acordo com a seção do corpo-de-prova e rotação de 710 rpm.

Durante os sangramentos, foram registradas as temperaturas obtidas ao longo do processo, com uma média de 15,6 pontos por segundo. Desta forma um tratamento para eliminação de ruídos decorrentes da distância e de vibrações do termômetro foi realizado e com esses valores foi possível obter as taxas de corte para cada sangramento, conforme proposto por Rodrigues e Ribeiro (2014), onde a taxa de corte máxima é a relação entre a diferença entre a máxima temperatura atingida e a temperatura inicial e a diferença entre os tempos correspondentes a essas temperaturas, para cada sangramento.

2 Método para determinação de desgaste nos bedames

Após os sangramentos, foi feita a captura das imagens para a identificação e análise visual do desgaste da referida ferramenta. Utilizou-se primeiramente um estereoscópio óptico, com a ampliação do local específico da ponta da ferramenta em 50x do tamanho real, na vista lateral de cada bedame, e em seguida foram capturadas as imagens os dos lados da ferramenta. Após isso, com o software de análise de imagem ImageJ®, foram feitas as medições, traçando-se linhas de referência paralelas às arestas de corte, delineando-as, e posteriormente traçando linhas perpendiculares que se estendem das linhas de referência até os pontos onde se encontram os desgastes, mensurando-o, como no exemplo mostrado na Figura 6, obtendo assim os dados das dimensões do desgaste de flanco (VB). Para critério de fim de vida da ferramenta, considerou-se o final do experimento e tomou-se como valor do desgaste obtido o desgaste de flanco máximo (VB_{MAX}), de acordo com a norma ISO 3685 (1993).

Por fim, todo o tratamento e compilação dos dados, consolidados na forma de gráficos e expressões algébricas desenvolvidos ao longo deste trabalho foram obtidos por meio do software OriginPro 9.1.

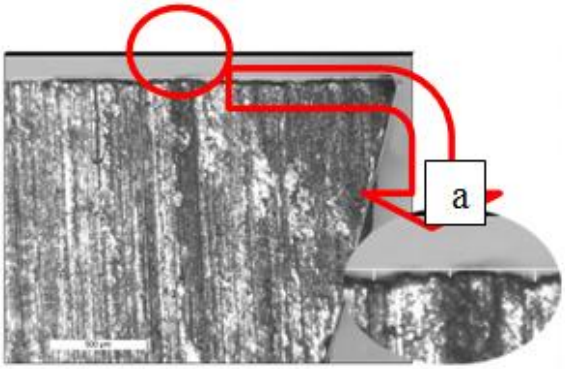


Figura 6 – *Linhas de medição utilizando o software ImageJ, a) Imagem aumentada da*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

região assinalada

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 7 mostra a evolução microestrutural da liga monotética do sistema Al-Pb em função da posição ao longo do lingote, das taxas de resfriamento geradas pelo processo e da velocidade de avanço da frente monotética, respectivamente. Observa-se que o espaçamento interfásico (espaçamento entre partículas da fase minoritária) aumenta ao longo do lingote solidificado horizontalmente. O molde refrigerado a água impõe valores mais altos de taxas de resfriamento e velocidade de avanço da frente monotética para posições mais próximas à superfície resfriada do lingote e um perfil decrescente ao longo do comprimento deste devido ao aumento da resistência térmica da camada solidificada (Rocha, 2003). Este efeito influencia o comportamento da liga, de maneira que são observados menores espaçamentos próximos à interface refrigerada e maiores ao se aproximar do final do lingote. Para todos os gráficos, a tendência de crescimento é representada por uma equação na forma de potência, com expoente positivo para representação do espaçamento em função da posição e negativo para os demais (Konno et al., 2016).

Alguns autores (Zhao, Drees e Ratke, 2000; Ran et.al, 2006) afirmam que, quando se solidificam ligas monotéticas, este crescimento é análogo ao crescimento eutético com duas fases crescendo lado a lado simultaneamente. Assim, o modelo de Jackson e Hunt (1966) para crescimento eutético, $\lambda^2 V_L = C$, parece ser aplicável para tais condições, conforme observado através da lei de crescimento da Figura 7-c.

1 Microdureza

A Figura 8 a) apresenta o gráfico e a equação que correlaciona os valores de microdureza obtidos com a posição a partir da interface metal/molde. Nesse sentido, pode-se verificar que, para posições mais próximas da interface de resfriamento os valores de microdureza são menores, aumentando gradativamente com relação à P, de acordo com a equação obtida em forma de potência ($HV = 20{,}4.(P)^{0{,}02}$). Ademais, pode se notar também que a variação entre os valores de HV foram pequenos ao longo do lingote. Isto pode se valer do fato de que a quantidade de chumbo na composição monotética com alumínio (apenas 1,2% em peso) pode não ter influenciado tanto na microdureza do lingote à base de alumínio, em torno de 30 Hv. Ainda assim, ao se correlacionar a microdureza tanto com P quanto com λ, equações experimentais representativas do processo puderam ser obtidas, validando a equação no formato de Hall e Petch para este caso específico ($HV = 25\text{-}28(\lambda)^{-1/2}$), Figuras 8-b e 8-c.

2 Temperatura de Corte

As Figuras 9-a, 9-b, 9-c e 9-d apresentam o resultado da taxa de aquecimento médio em função da posição a partir da interface metal/molde e do espaçamento interfásico, respectivamente, para os sangramentos realizados. Os valores de máximo e mínimo representam a faixa de posições de cada corpo-de-prova para cada sangramento. Nas Figuras 9-a e 9-c, observa-se a taxa para todos os sangramentos realizados. Percebe-se que o primeiro sangramento, por estar em uma região de grande transiência na solidificação, inclusive com coeficientes de transferência de calor bastante elevados, apresenta resultados fora de uma estabilidade em relação aos sangramentos seguintes. Além disso, a partir do quinto sangramento, onde ocorre uma mudança de estrutura de solidificação, a taxa de aquecimento médio sofre uma elevação, mostrando que a mudança de estrutura altera a usinabilidade do material. Extraindo-se o resultado do primeiro sangramento obtêm-se as Figuras 9-b e 9-d, onde funções do tipo potência foram utilizadas para representar a variação da taxa de aquecimento médio com a posição e com o espaçamento interfásico, respectivamente, para as diferentes estruturas encontradas. Em ambos os casos observa-se uma diminuição da taxa de aquecimento médio com o aumento da posição/espaçamento.

Estudos apontam que o aumento da temperatura de corte está relacionado aos esforços existentes no processo de usinagem ou ainda à fusão do material a ser usinado, evidenciado pela formação de gume postiço (Abukhshim, Mativenga e Sheikh, 2006; Melo et al. 2003; Sullivan e Cotterell, 2001). Para o caso em questão, por se tratar de uma liga extremamente mole (Al-Pb), as altas temperaturas de corte encontradas, representadas pelas taxas de aquecimento de cada sangramento são justificadas pela fusão do

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

corpo de prova usinado durante o processo de sangramento. O gume postiço observado durante os ensaios comprova tal fato. Entretanto a pouca variação de dureza observada na Figura 8 não parece ser a responsável pela diferença nos valores encontrados ao longo do lingote.

3 Desgaste da ferramenta

A Figura 10 apresenta as imagens da ponta das ferramentas, com vista (a) e (b) lateral pelo flanco da aresta principal e secundária, após a execução de cada um dos sangramentos (nomeados lados “A” e “B”) e (c) de topo. Logo após o sangramento tentou-se remover a maior quantidade de gume postiço ou aresta postiça possível das ferramentas.

Baseado em observação visual, observa-se grande deposição de material da peça na ferramenta mesmo com a remoção deste após o processo de sangramento. Esse material apresenta-se na forma de áreas e/ou protuberâncias claras em algumas imagens e escuras em outras, dependendo do ângulo em que as ferramentas encontravam-se no microscópio.

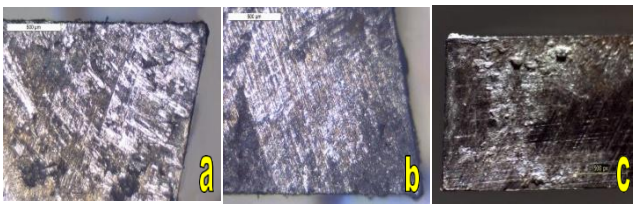


Figura 10 - *Imagens de um dos bedames (a) lateral lado A; (b) lateral lado B; (c) topo.*

As temperaturas geradas durante o processo de sangramento sem fluido de corte de uma peça constituída de uma liga Al-Pb, materiais bastante moles (sendo o chumbo presente na liga utilizado como material autolubrificante devido à sua forma de partículas pastosas na matriz de alumínio), provavelmente contribuíram para a formação de aresta postiça de corte, que se sobressaiu e inibiu o aparecimento de desgastes mais evidentes. Ainda assim pôde ser observado desgaste de flanco e uma pequena deformação plástica da ponta da ferramenta, que provavelmente foram originados pelo mecanismo de aderência e arrastamento *(attrition)*. Tal mecanismo ocorre quando há a formação de aresta postiça de corte (APC), corte interrompido, profundidade de corte variável, vibração no processo, usinagem de materiais pastosos/tenazes, dentre outros (Souto, 2007). Neste caso, a formação da APC (gerada pelo tipo de liga usinada), juntamente com a geometria da peça (retangular), podem ter sido fatores que favoreceram o mecanismo. A continuidade da usinagem (processo de sangramento) levou à remoção das arestas postiças inicialmente formadas, gerando os desgastes observados.

Segundo Ferraresi (1977), a vida de uma ferramenta é o tempo que a mesma trabalha efetivamente até perder sua capacidade de corte, dentro de um critério previamente estabelecido. Para a ferramenta em questão, a norma ISO 3685 (1993) indica como um dos critérios de fim de vida da ferramenta de torneamento o desgaste máximo VBmáx = 0,6 mm, considerando desgaste irregular. Para as condições de trabalho imposta no processo, como já era esperado, ao observar a Tabela 2, verifica-se que os desgastes máximos encontrados em todos os sangramentos são inferiores ao valor do critério estabelecido pela norma acima mencionada, ou seja, o fim da vida da ferramenta não foi atingido nesses casos.

Tabela 2 - *Valores máximos dos desgastes encontrados.*

Posições P (mm)	Desgaste Máximo VBmáx (mm)
0 a 10	0,0201
11 a 20	0,0174
21 a 30	0,0142
31 a 40	0,0108
41 a 60	0,0268
51 a 80	0,0244

A fim de se estabelecer uma relação entre o desgaste da ferramenta em cada sangramento e a posição em relação à interface metal/molde, a Figura 11 a seguir mostra o gráfico VB versus posição. Observa-se um decréscimo no valor do desgaste da ferramenta com o distanciamento da interface metal/molde, com exceção dos quinto e sexto sangramentos, que foram realizados em uma região onde a direcionalidade de solidificação não foi observada (transição colunar/equiaxial do lingote), não podendo ser comparados com os casos em que o sangramento foi feito na região colunar para a análise do desgaste em questão.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

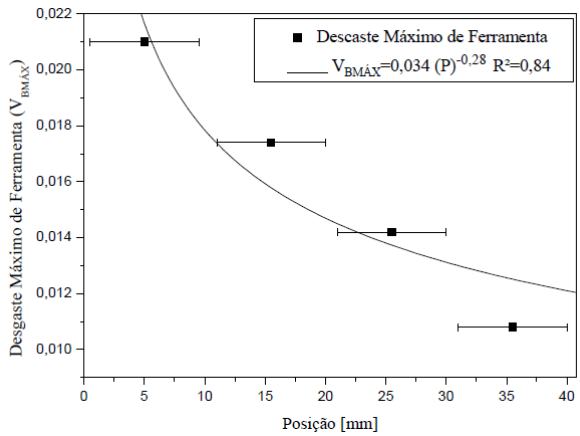


Figura 11 - *Desgaste máximo em função da posição*

Para os casos onde o sangramento foi realizado na região colunar, as relações puderam ser representadas por funções do tipo potência. Os resultados encontrados complementam os encontrados para temperatura de corte, que encontraram menores taxas de aquecimento médias para o sangramento em posições mais afastadas da base do lingote, com exceção do primeiro sangramento. Maiores temperaturas de corte em uma liga de alumínio ocasionam geração de um maior volume de gume postiço, aumentando o desgaste da ferramenta. Além disso, as partículas de chumbo menos espaçadas na matriz de alumínio próximas à base do lingote podem ter contribuído para uma maior deposição de material da peça na ferramenta, aumentando o desgaste por aderência e arrastamento. Quanto à diferença encontrada entre os resultados de temperatura e corte e de desgaste para o primeiro sangramento, a instabilidade por conta dos valores elevados do coeficiente de transferência de calor (hi) próximos à base do lingote influenciou nos resultados de taxa de aquecimento média, entretanto não influenciou nos valores de desgaste.

Outrora, supunha-se que o gume postiço protegia o gume da ferramenta contra o desgaste, aplicado em operações de desbaste, e melhorava o corte pela formação de um ângulo de cunha mais agudo, que funcionaria como um quebra-cavaco. Hoje, sabe-se que o gume postiço não representa um gume afiado, mas sim um montículo arredondado de várias camadas finas e sobrepostas de material arrancado do cavaco, gerando uma piora na qualidade superficial da peça usinada (Machado et al., 2011). Apesar de em algumas situações ainda serve como proteção à ferramenta de corte, evitando seu desgaste excessivo quando exposto a condições severas (Silva et. al., 2018), dependendo da estrutura observada durante o processo de solidificação e das condições de corte, nem sempre essa característica pode ser considerada verdadeira, como visto no presente trabalho em que a formação do gume postiço aumentou o desgaste da ferramenta.

CONCLUSÕES

O espaçamento interfásico (espaçamento entre partículas da fase minoritária) aumenta ao longo do lingote solidificado horizontalmente e diminui com o aumento das Taxas de Resfriamento e Velocidade de Crescimento. Além disso, foi possível aplicar o modelo de Jackson e Hunt (1966) para crescimento eutético, $\lambda_2 V_L = C$, na liga estudada;

Os valores de microdureza aumentaram com o distanciamento da interface metal/molde segundo a equação $HV=20,4(P)^{0,02}$, obtida experimentalmente. O espaçamento das partículas parece não influenciar significativamente os valores de HV, portanto, os resultados encontram-se à microdureza do alumínio puro (30HV); Mesmo assim, foi gerada a equação experimental que correlaciona a microdureza com o espaçamento interfásico de duas maneiras: funções do tipo potência $HV=18,4(\lambda)^{0,04}$ e de tipo Hall-Petch $HV=25–28(\lambda)^{-1/2}$;

Os resultados obtidos para temperatura de corte e desgaste se complementam, pois ambos decrescem com o aumento da posição a partir da interface metal/molde e com o aumento do espaçamento interfásico, na região colunar. A exceção dos resultados primeiro sangramento (posições iniciais do lingote) para a Taxa de Aquecimento média ocorre devido a uma alta instabilidade no início do processo de solidificação, que não influenciou nos resultados de desgaste. Todas as relações puderam se expressas na forma de funções do tipo potência;

Mesmo com a formação da aresta postiça, foi observado desgaste de flanco e uma pequena deformação plástica da ponta da ferramenta, que provavelmente foram originados pelo mecanismo de aderência e arrastamento. Os degastes máximos analisado em todos os sangramentos são inferiores ao valor do critério

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

estabelecido pela norma ISO 3685, (1993), mostrando que o fim da vida da ferramenta não foi atingido em nenhum dos casos;

Ainda que a adição de chumbo em quantidades permitidas facilite a quebra do cavaco e melhore o processo de usinagem em ligas de alumínio, para estruturas de solidificação onde as partículas encontram-se pouco espaçadas a adição do elemento pode prejudicar a usinabilidade com maior geração de calor e maiores desgastes de ferramenta.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro concedido pela Universidade Federal do Pará (UFPA), Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará (IFPA), Fundação Amazônia de Amparo a Estudos e Pesquisas (FAPESPA, ICAAF 064/2016) e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, projeto edital universal nº 400634/2016-3).

REFERÊNCIAS

1. ABUKHSHIM, N.A, MATIVENGA, P.T, SHEIKH, M.A. *Int. J Mach Tool Manu*, **2006**, 46 (787), 782.

2. DASCH, J.M; ANG, C.C; WONG, C.A; WALDO, R.A; CHESTER, D; CHENG, Y.T; POWELL, B.R; WEINER, A.M; KONCA, E. *J Mater Process Technol*, **2009**, 209(10), 4638.

3. DAVIES, M.A; UEDA, T; SAOUBI, R.M; MULLANY, B; COOKE, A.L. *CIRP Ann - Manu Technol*, **2007,** 56, 581.

4. DINIZ, A; MARCONDES, F; COPPINI, N., 2013, *Tecnologia da usinagem dos materiais.* 8a. ed. São Paulo: Artliber.

5. FERRARESI, D., 1977, *Fundamentos da Usinagem dos Metais*. São Paulo: Edgard Blücher.

6. GARCIA, A., 2007, *Solidificação: Fundamentos e Aplicações.* 2ª Ed. São Paulo: Editora da Unicamp.

7. GOUTHAMA, G.B; RUDRAKSHI, S.N; OJHA, J. *J Mater Process Technol*, **2007**, 189, 224.

8. HADDAG, B; NOUARI, M. *Wear*, **2013**, 302, 1158.

9. ISO. Tool-life testing with single-point turning tools, ISO 3685 (1993).

10. JACKSON, K.A; HUNT, J.D; UHLMANN, D.R; SEWARD, T.P. *Trans. AIME*, **1966**, 236, 149.

11. KONNO, C.Y.N; VASCONCELOS, A.J; BARROS, A.S; SILVA, A.P; OTÁVIO, O.F.L; GARCIA, A; SPINELLI, J.E. *Mater Sci Forum*, **2016**, 869, 429.

12. LOHSE, J; SANDER, K; WIRTS, M. Heavy Metals in Vehicles II. Institute for Ecology and Political Affair, 2001.

13. MACHADO, A.R; ABRÃO, A.M; COELHO, R.T; SILVA, M.B., 2011, *Teoria da Usinagem dos Materiais*, 3ª Ed. São Paulo: Edgard Blucher.

14. MELO, A.C.A; MACHADO, A.R; LIMA *&* SILVA, S.M.M; GUIMARÃES, G. (2003) Estudo da variação da temperatura de corte no fresamento frontal. *In: Congresso brasileiro de Engenharia de Fabricação – COBEF*, Uberlândia, 2003, Uberlândia: ABM.

15. RAN, G; ZHOU, J; XI, S; LI, P. *J Alloy Compd,* **2006**, 419, 66.

16. ROCHA, Otávio Fernandes Lima da., 2003, *Análise Teórico-Experimental da Transição Celular/Dendrítica na Solidificação Unidirecional: Caracterização da Microestrutura Dendrítica e da Evolução da Morfologia na Solidificação em Condições de Fluxo de Calor Transitório*. Tese (doutorado). Campinas, SP: Universidade Estadual de Campinas.

17. RODRIGUES, Daniel Castro; RIBEIRO, Leandro José Monteiro., 2014. *Análise da temperatura de corte no sangramento das ligas Al-1,2%Pb, Al-3%cu, Al-3%Si solidificadas em um dispositivo direcional horizontal*. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Mecânica). Belém, PA: 2014, Universidade Federal do Pará.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

18. SANTOS JR, M.C; MACHADO, A.R; SALES, W.F; BARROZO, M.A.S; EZUGWU, E. O. Int *J Adv Manu*, **2016**.

19. SILVA, J.N; MOUTINHO, D.J; MOREIRA, A.L; FERREIRA, I.L; ROCHA, O.L. *J Alloys Compd*, **2009,** 478, 358.

20. SILVA, J.N; MOUTINHO, D.J; MOREIRA, A.L; FERREIRA, I.L; ROCHA, O.L. *Mater Chem Phys*, **2011,** 30, 179.

21. SILVA, M.B; WALLBANK, J. *J Mater Process Technol*, **1999**, 88(1-3), 195.

22. SILVA, A.P; FREITAS, E.S; SPINELLI, J.E; GARCIA, A; GOULART, P. R: *J Mater Sci,* **2012**, 47, 5581.

23. SILVA, A.P; SPINELLI, J.E; GARCIA, A. *J Mater Sci Technol*, **2014,** 30, 401.

24. SILVA, C.A.P; LEAL, L.R.M; GUIMARÃES, E.C; MONTEIRO JR, P; MOREIRA, A.L; ROCHA, O.L; SILVA, A.P. *Adv Mater Sci Eng*, **2018**, 2018.

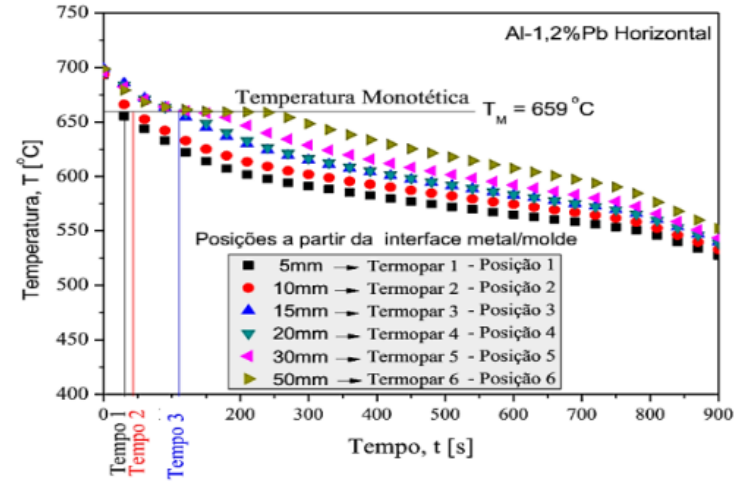
25. SOUTO, Ulisses Borges, 2007. *Monitoramento do desgaste de ferramenta no processo de fresamento via emissão acústica.* Tese (Doutorado). Uberlândia, MG: Universidade Federal de Uberlandia.

26. SULLIVAN, D.O; COTTERELL, M. *J Mater Process Technol*, **2001**, 118, 301.

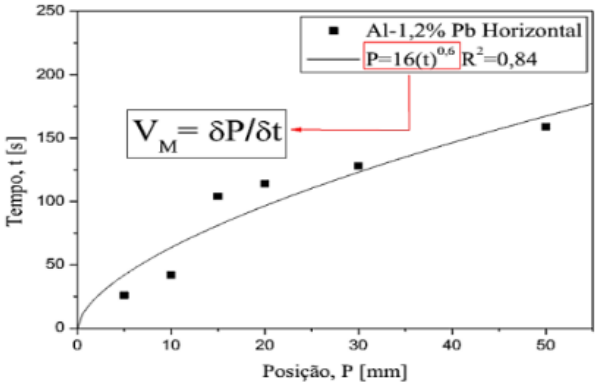
27. Sundman, B; Chen, Q. ThermoCalc, STT Foundation (Foundation of computational thermodynamics). Stockholm, Sweden, 1995.

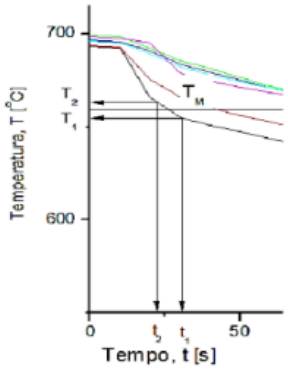
28. ZHAO, J.Z; DREES, S; RATKE, L. *Mater Sci Eng A*, **2000**, 282, 262.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil



Posição (P)	Tempo (t)
5	1,06
10	0,41
15	0,3
20	0,17
30	0,09
50	0,03

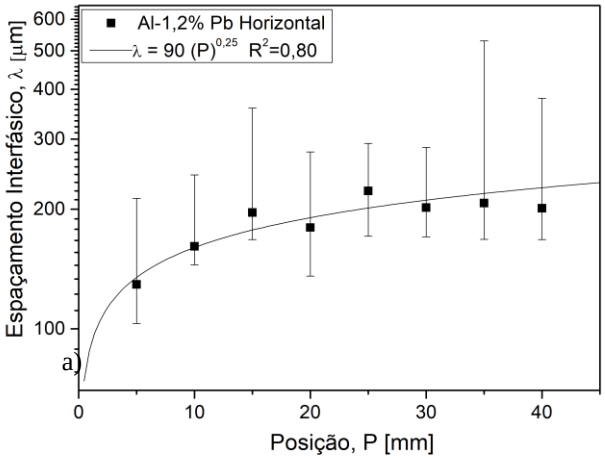




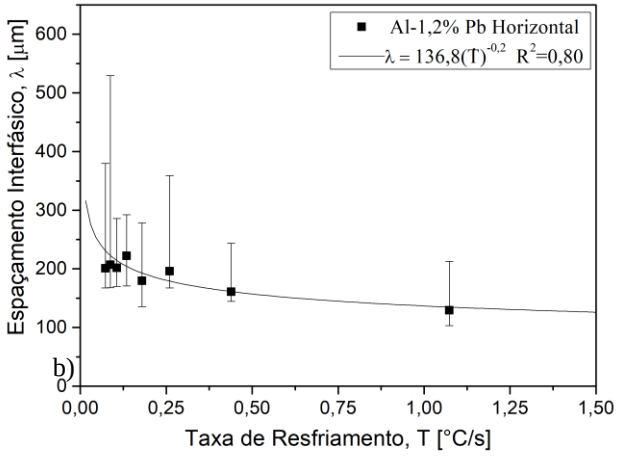
$$\dot{T} = \frac{T_2 - T_1}{t_2 - t_1}$$

Figura 2 – *Metodologia de cálculo das variáveis térmicas a partir dos perfis de temperatura.*

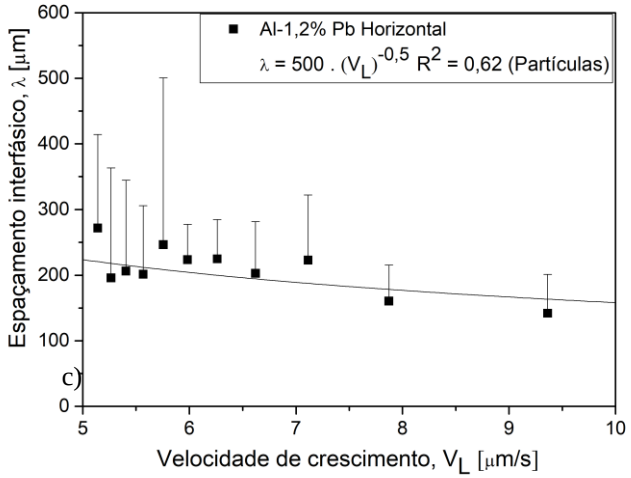
© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil



a)



b)

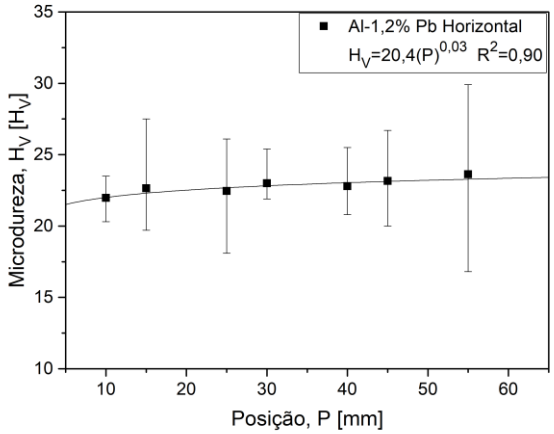


c)

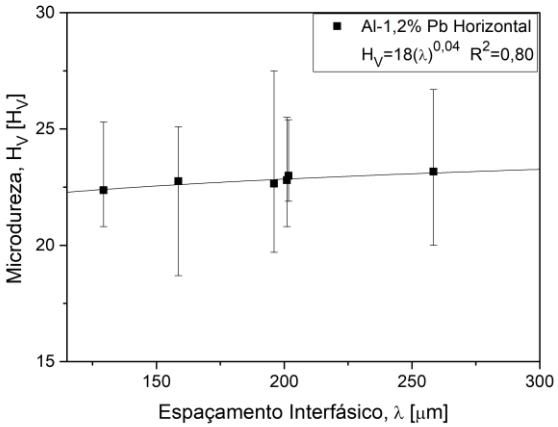
Figura 7 – *Espaçamento Interfásico da liga Al 1,2%Pb em função da a) Posição, b) Taxa de Resfriamento, c) Velocidade de crescimento.*

Fonte: Konno et al., 2016

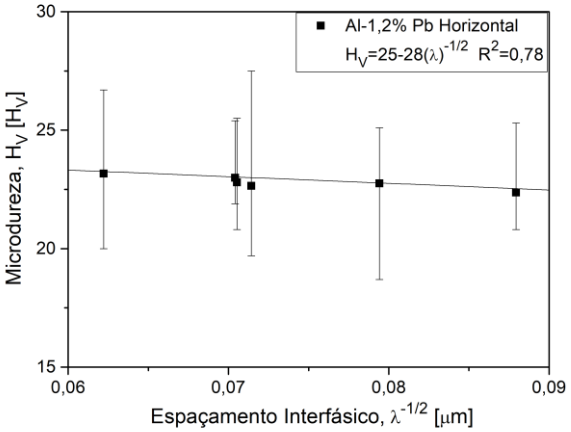
© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil



a)



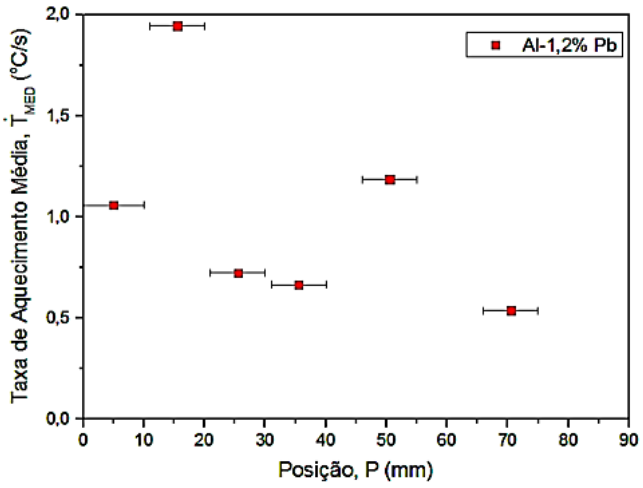
b)



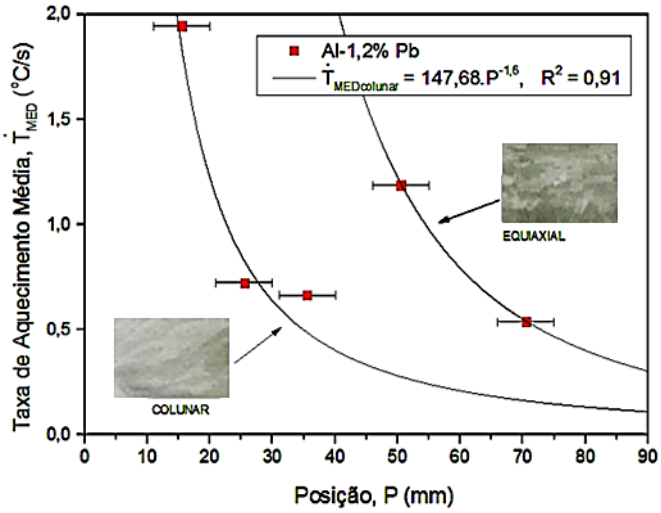
c)

Figura 8 – *Correlação entre Microdureza e a) Posições ao longo do lingote da liga Al-1,2%Pb solidificado na direção horizontal; b) e c) espaçamento interfásico da liga Al-1,2%Pb solidificado na direção horizontal, com funções do tipo potência e Hall-Petch, respectivamente.*

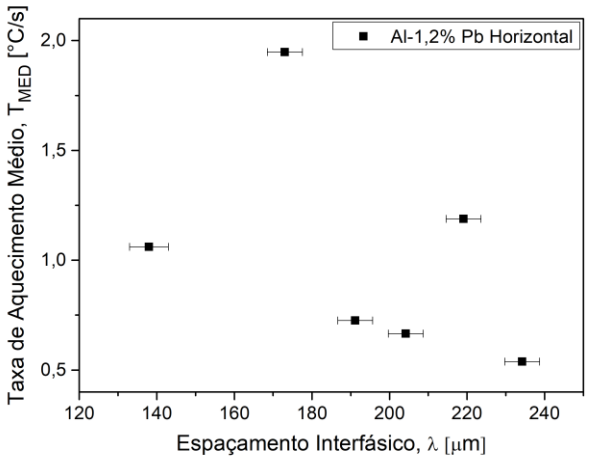
© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil



a)

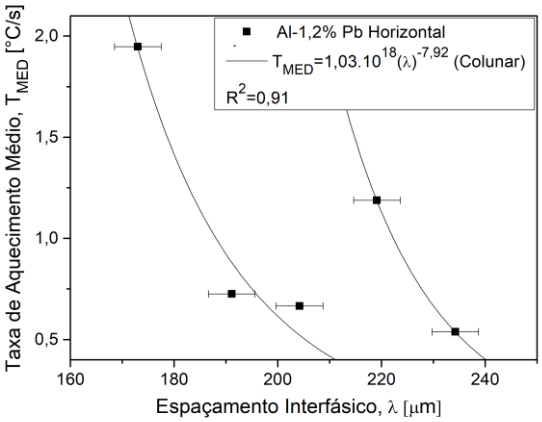


b)



c)

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil



d)

Figura 9 – *a) Taxa de aquecimento médio para cada faixa de posições; b) Função representativa da taxa de aquecimento médio válida, com a posição; c) Taxa de aquecimento médio para cada faixa de espaçamentos interfásicos e d) Função representativa da taxa de aquecimento médio válida, com os espaçamentos.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

ÁCIDO MALÔNICO (1:1) COMPLEXO MOLECULAR DE 2-AMINOPIRIDINA: ESTRUTURA DE CRISTAL E ANÁLISE DE SUPERFÍCIE HIRSHFELD

MALONIC ACID (1:1) 2-AMINOPYRIDINE MOLECULAR COMPLEX: CRYSTAL STRUCTURE AND HIRSHFELD SURFACE ANALYSIS

FLORES-CRUZ, Jesus A.[1]; DELGADO, Gerzon E.[2*]; JAMALIS, Joazaizulfazli[4]; HENAO, José A.[5]

[1] Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada-Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, C.P. 11500, México
(phone: +52 55 4046071)

[2] Laboratorio de Cristalografía Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida 5101, Venezuela
(phone: +58 274 2401394; fax: +58 274 2401286)

[4] Department of Chemistry, Faculty of Science, Universiti Teknologi Malaysia, 81310 UTM Skudai Johor, Malaysia
(phone: +60-075534313)

[5] Grupo de Investigación en Química Estructural, Escuela de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander, AA 678, Bucaramanga, Colombia
(phone: +57-315-8249350)

** Corresponding author*
e-mail: gerzon@ula.ve

Received 26 November 2017; received in revised form 18 October 2018; accepted 22 October 2018

RESUMO

A co-cristalização é a combinação supramolecular de duas ou mais entidades químicas diferentes em uma rede cristalina através de interações não covalentes. Em particular, a preparação de co-cristais farmacêuticos oferece um meio para modificar as propriedades físico-químicas dos cristais sem alterar as propriedades químicas de uma molécula farmacêutica, melhorando várias propriedades físicas do fármaco puro tais como solubilidade, biodisponibilidade, estabilidade térmica, etc. Este trabalho mostra um bom exemplo de síntese e caracterização de um co-cristal que pode contribuir para a indústria farmacêutica. Neste estudo, difração de raios-X de monocristal foi utilizada para caracterizar estruturalmente o complexo molecular formado entre dois isômeros conformacionais farmacêuticos: 2-aminopiridina e ácido malônico. O composto do título foi sintetizado por trituração num almofariz de ágata. Sua estrutura foi caracterizada por difração de raios X. Este composto cristaliza no sistema monoclínico com grupo espacial $P2_1/n$, Z = 4, e parâmetros de célula unitária *a* = 7.718(1) Å, *b* = 17.518(2) Å, *c* = 13.726(2) Å, β = 94.270(8)°, V = 1850.6(4) Å^3. O sal $C_3H_3O_4^-\cdot C_5H_7N_2^+$ é um conjunto iônico auxiliado por ligações de hidrogênio estabelecidas entre ânions de malonato e cátions de 2-aminopiridina. Os dois componentes constroem, assim, uma montagem supramolecular com uma estrutura tridimensional de ligação de hidrogênio. A análise de superfície de Hirshfeld foi usada para analisar visualmente interações intermoleculares na estrutura cristalina.

Palavras-chave: *complexo molecular, estrutura do cristal, padrões de ligação de hidrogênio, análise de superfície de Hirshfeld*

ABSTRACT

Co-crystallization is the supramolecular combination of two or more different chemical entities in a crystalline lattice through non-covalent interactions. In particular, the preparation of pharmaceutical co-crystals offers a means to modify the physicochemical properties of crystals without altering the chemical properties of a pharmaceutical molecule, improving several physical properties of the pure drug such as solubility, bioavailability, thermal stability, etc. This work shows a good example of synthesis and characterization of a co-crystal which can contribute to the pharmaceutical industry. In this study, single-crystal X-ray diffraction was

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

used to characterize structurally the molecular complex formed between two pharmaceutical conformers; 2-aminopyridine and malonic acid. The title compound has been synthesized by grinding in an agate mortar. Its structure was characterized by X-ray diffraction. This compound crystallize in the monoclinic system with space group $P2_1/n$, Z = 4, and unit cell parameters *a* = 7.718(1) Å, *b* = 17.518(2) Å, *c* = 13.726(2) Å, β = 94.270(8)°, V = 1850.6(4) $Å^3$. The salt, $C_3H_3O_4^-·C_5H_7N_2^+$, is an ionic ensemble assisted by hydrogen bonds established between malonate anions and 2-aminopyridinium cations. The two components thus construct a supramolecular assembly with a three-dimensional hydrogen bonded framework. Hirshfeld surface analysis was used for visually analyzing intermolecular interactions in the crystal structure.

Keywords: *molecular complex, crystal structure, hydrogen bonding patterns, Hirshfeld surface analysis*

INTRODUCTION

The formation of multicomponent crystal of organic compounds is unexpected because the resulting crystal could be a cocrystal, in which the different components are neutral species, or a salt, in which the components are charged species (Morissette *et al*., 2004). When one of the components is an active pharmaceutical ingredient (API) it is possible to prepare the so-called pharmaceutical cocrystals, which plays a significant role in the development of new drugs mainly due to the fact that an API can be crystallized with different conformers improving their physical and chemical properties (Desiraju, 2003; Aakeröy and Salmon, 2005; Vishweshwar et al., 2006).

The preparation of these materials can be carried out by different methods such as recrystallization, growth from the melt or grinding (Blagden *et al*., 2007), solvent choice and solubility (Jones *et al*., 2005), and the chemistry of functional groups and pKa (Trask *et al*., 2005). The main route to obtain good crystalline products, with API, has been the formation of salts, which is an acid-base reaction between the API and an acidic or basic substance.

Some homomeric or heteromeric synthons such as amide/amide (Aakeröy *et al*., 2001), carboxylic acid/aminopyrimidine (Shan and Zaworotko, 2008) and amide/pyridine (Lemmeer *et al*., 2008) favor the formation of these types of multicomponent crystals. Therefore, two good candidates for the pharmaceutical co-crystal formation are the aminopyridines and the carboxylic acids, due to the supramolecular heterosynthon formations. Carboxylic acids play a significant role in crystal engineering because they are self-complementary and they can form heterosynthons with a wide range of other functional groups (Bis and Zaworotko, 2005). Aminopyridines are key intermediates for the synthesis of important pharmaceuticals and agrochemicals. Particularly, 2-aminopyridine is an important solid that is used in the production of the drugs piroxicam, sulfapyridine, tenoxicam, and tripelennamine (Gouda *et al*., 2017).

In this study, and as part of ongoing studies on multicomponent crystals (Belandria *et al*., 2012; Mora *et al*., 2013; Belandria *et al*., 2013; Delgado *et al*., 2015; Chacón *et al*., 2017; Delgado *et al*., 2017), we used malonic acid mixed with 2-aminopyridine, in order to prepare the 1:1 multicomponent 2-aminopyridinium semi-malonate (MAL^-:$2AP^+$). The crystal structure and supramolecular hydrogen bond patterns study is performed and Hirshfeld surface analysis (Spackman and Byrom, 1997) was used for visually analyzing intermolecular interactions in the crystal structure.

MATERIALS AND METHODS

Synthesis

The molecular complex (Figure 1) was prepared as follows: equimolar quantities of malonic acid (0.1mmol, Aldrich, 98%) and 2-aminopyridine (0.1mmol, Aldrich, 98%) were pulverized in an agatha mortar with a pestle and dissolved in 5mL of methanol.

The mixture was placed in a reflux system for one hour at a constant temperature of 50 °C. Colorless crystals (I) of suitable size for X-ray diffraction experiments were obtained by the slow evaporation of the solution. Melting point 142-143°C.

X-ray powder diffraction

The X-ray powder diffraction patterns for malonic acid (MAL), 2-aminopyridine (2AP) and formed salt MAL^-:$2AP^+$ (I) were collected at room temperature in a Phillips PW-1250 (Phillips,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Netherland) goniometer using CuKα radiation. A small quantity of each compound was ground mechanically in an agate mortar and pestle and mounted on a flat holder covered with a thin layer of grease. The samples were scanned from 5-55° 2θ, with a step size of 0.02° and counting time of 10s. Silicon was used as an external standard.

X-ray powder patterns comparison showed in Figure 2a evidence the formation of a new compound. For the MAL^{-}:$2AP^{+}$ (**I**) powder pattern, the 20 first measured reflections were completely indexed using the program Dicvol04 (Boultif and Löuer, 2004), which gave a unique solution in an monoclinic cell with parameters *a* = 7.72 Å, *b* = 17.52 Å, *c* = 13.70 Å, β = 94.25° in a P-type cell. In order to confirm the unit cell parameters, a Le Bail refinement (Le Bail, 2015) of the whole diffraction pattern without structural was carried out using the Fullprof program (Rodriguez-Carvajal, 2017). Figure 2b shows a very good fit between the observed and calculated patterns.

X-ray single-crystal crystallography

Table 1 *Crystal data, data collection and structure refinement of* ***(I)***

Chemical formula	$C_3H_3O_4^{-}\cdot C_5H_7N_2^{+}$
Formula weight	198.18
Crystal system	monoclinic
Space group	$P2_1/n$ (No. 14)
a(Å)	7.7175(10)
b(Å)	17.518(2)
c(Å)	13.7263(19)
β(°)	94.270(8)
V(Å^3)	1850.6(4)
Z	4
d_x (g cm^{-3})	1.423
F(000)	832
μ(mm^{-1})	0.116
Crystal size (mm)	0.6 x 0.3 x 0.3
Radiation (MoKα)	λ = 0.71073 Å
Temperature (K)	296(2)
θ range (°)	1.9 - 29.8
hkl range	-7≤h≤10; -23≤k≤23; -19≤l≤17
Reflections	
Collected	34574
Unique (R_{int})	4817 (0.067)
With I > 2σ(I)	1817
Refinement method	Full-matrix least squares on F^2
Number of parameters	253
R(F^2) [I > 2σ(I)]	0.1047
*w*R(F^2) [I > 2σ(I)]	0.2889
Goodness of fit on F^2	1.05
Max/min $\Delta\rho$ (e Å^{-3})	0.43/-0.31

Colorless block crystal of the title compound (0.6×0.3×0.3 mm) was used for data collection. Diffraction data were collected at 296(2) K by ω-scan technique on a Bruker SMART APEX II CCD diffractometer [24] equipped with MoKα radiation (λ = 0.71073 Å). The data were corrected for Lorentz, polarization and absorption effects [25]. The structure was solved by direct methods using the SHELXS program [26] and refined by a full-matrix least-squares calculation on F^2 using SHELXL [27]. All H atoms were placed at calculated positions and treated using a riding model, with C-H distances 0.96-0.98 Å and U_{iso}(H) = 1.2 U_{eq}(C)], N-H 0.86 Å and U_{iso}(H) = 1.2 U_{eq}(N)]. The Cambridge Structural Database (CSD, version 5.39, August 2018) was used for structure analysis (Groom and Allen, 2014).

Table 1 summarizes the crystal data, intensity data collection and refinement details for the title compound. Crystallographic data for the structure reported in this paper have been deposited at the Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC No. 1008422).

Hirshfeld surfaces analysis

Hirshfeld surface defines the contour of shape occupied by a molecule in the crystal structure and is constructed basing on the electron distribution calculated as the sum of spherical atom electron densities (Spackman and Byrom, 1997). Some properties can be plotted on Hirshfeld surface: (i) d_e is the distance from the Hirshfeld surface to the nearest nucleus outside the surface, (ii) d_i is the corresponding distance to the nearest nucleus inside the surface, and (iii) d_{norm} is a normalized contact distance and is the sum of these two (d_i and d_e) normalized by the

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

van der Waals radii quantities. Where atoms make intermolecular contacts closer than the sum of their van der Waals radii, these contacts will be highlighted in red on the d_{norm} surface. Longer contacts are blue, and contacts around the sum of van der Waals radii are white (McKinnon *et al*., 2007). 2D fingerprint plots (Spackman and McKinnon, 2002) clearly identify each type of intermolecular interactions. They not only indicate which intermolecular interactions are present, but also the relative area of the surface corresponding to each kind of interaction. The most obvious characteristics of these plots are their pseudo-mirror symmetry about the diagonal where $d_i = d_e$. The pseudo-mirror symmetry of the 2D plots is a direct consequence of the molecule having both donor and acceptor roles in the same intermolecular interaction. Hirshfeld 3D surfaces and the associated 2D fingerprint information were generated using the program CrystalExplorer (version 3.1). All bond lengths to hydrogen were automatically modified to typical standard neutron values (C-H = 1.083 Å, N-H = 1.009 Å and O-H = 0.983 Å). The electrostatic potentials were mapped on the Hirshfeld surfaces using the STO-3G basis set at the level of Hartree-Fock theory over a range of ±0.075 au.

RESULTS AND DISCUSSION:

Figure 3 shows the molecular structure and the atom-labeling scheme of MAL^{-}:$2AP^{+}$ (I). Table 1 shows the crystallographic data and structure refinement parameters and Table 2 shows selected geometrical parameters for (I).

This molecular complex (salt) can be described as an ionic ensemble assisted by hydrogen bonds. The asymmetric unit consists of two MAL^{-} anions acting as semi-carboxylate ions, i.e. semi-malonates and two 2AP+ cations with positive charges residing on atoms N2 and N4 (Figure 3). The existence of semi-malonate ions is confirmed by checking the differences in the bond distances C1-O1 [1.301(8) Å) and C4-O5 [1.298(8) Å], compared with C1-O2 [1.212(9) Å] and C4-O6 [1.211(9) Å], with oxygen atom O1 and O5 being protonated. The remaining bond distances C3-O3 (C3-O4) and C6-O7 (C6-O8) are similar confirming delocalization of a negative charge on the other extreme of the molecules.

A proton transfer from the carboxyl group of malonic acids to atom N2 and N4 of 2-aminopyridine resulted in the salt formation. This protonation lead to the widening of C7-N2-C11 and C12-N4-C16 angles of the pyridine rings to 122.6(5)°, compared to 117.6(1)° in the unprotonated 2-aminopyridine (Chao *et al*., 1975). The C-N-C angle of pyridines is very sensitive to protonation. The complete protonation of the aminopyridine heterocycles in (I) is indicated by the enlarged C7-N2-C11 (C12-N4-C16) angles [average 122.6(5) Å] and the reduced N2-C11-C10 (N4-C16-C15) angles [average 118.5 (5) Å].

A search in the Cambridge Structural Database (CSD, version 5.39, August 2018) (Groom and Allen, 2014) shows 86 adducts containing 2-aminopyridine with carboxylates. It has been found that there are 56 entries containing malonic acid forming adducts with anilines. Malonic acid exists in a diprotonated form (malonic) in 14 entries, in a monoprotonated form (semi-malonate) in 36 and in the form of a doubly charged anion (malonate) in 6 entries. In the crystal structure of (I) is confirmed the existence of semi-malonate ions.

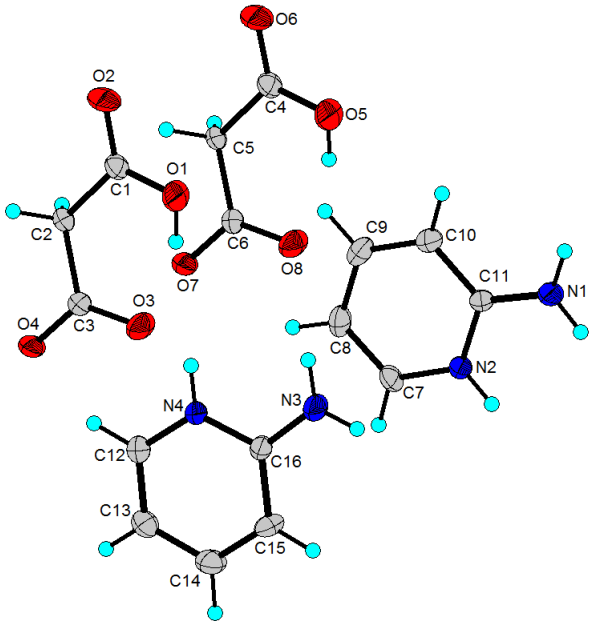


Figure 3. *Asymmetric unit of (I), showing the atomic numbering scheme (displacement ellipsoids are drawn at 25% probability level; H atoms are shown as spheres of arbitrary radii)*

The crystalline structure of (I) is stabilized by three pairs of equivalent hydrogen bonds, which involve the carboxyl and amine groups, serving as both acceptors and donors in a set of head-to-tail interactions, as depicted in Figure 4. The geometrical parameters of these hydrogen bonds are summarized in Table 3.

In the crystal packing (Figure 4), the

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

protonated N1 (N3) and N2 (N4) atoms of 2-aminopyridines are hydrogen-bonded to the carboxylate oxygen atoms O3 (O8) and O4 (O7) via a pair of intermolecular N1---H1A···O3 (N3---H3A···O8) and N2---H2···O4 (N4---H4···O7) hydrogen bonds form rings with graph-set motif $R^2_2(8)$ (Etter, 1990; Etter *et al*., 1990).

Besides, the protonated N1--H1B and N3--H3B atoms forms new hydrogen bonds N1---H1B···O6 (N3---H3B···O2) originating chains with graph-set $C^2_2(8)$. The $R^2_2(8)$ sets join into zigzag molecular chains along b axis, as depicted in Figure 5.

In addition, atoms O1 (O5) of the carboxyl groups of the hydrogen malonate anions forms intramolecular O1---H1···O3 (O5---H5···O8) hydrogen bond with the O atom of the carboxylate group, with graph-set notation S6, leading to a folded conformation. The crystal structure is further stabilized by four weak C---H···O hydrogen bonds.

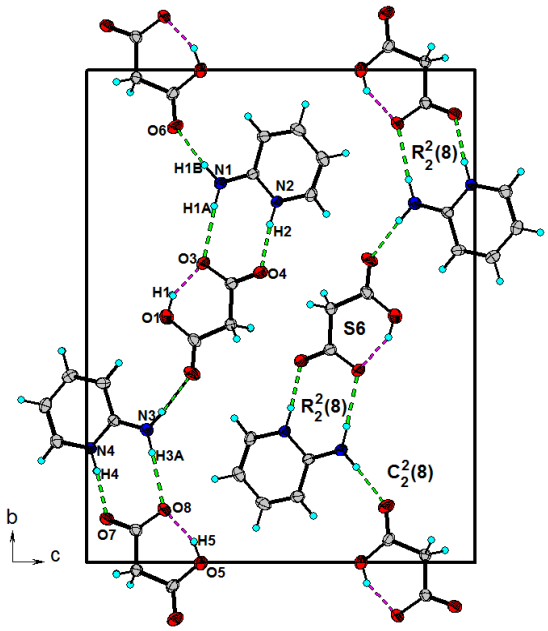


Figure 4. *A partial packing view (bc plane) of (I) showing the intermolecular (N--H···O) and intramolecular (O--H···O) hydrogen bonds. Broken lines indicate hydrogen bonds*

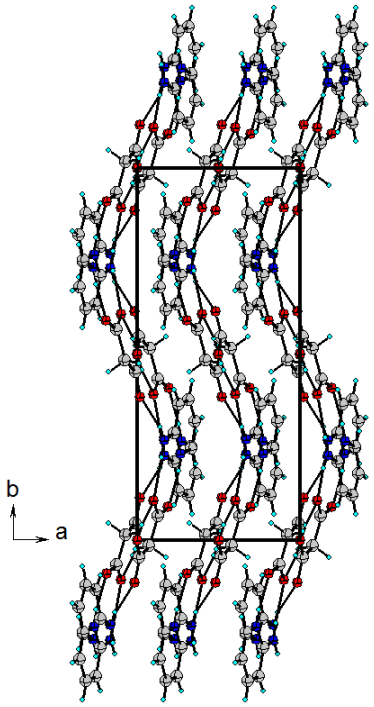


Figure 5. *A portion of the crystal packing of (I) in the ba plane showing the zigzag molecular* chains along b axis

In order to visualize the intercontacts in the molecular structure, the Hirshfeld surface analysis was carried out for the title molecule. The Hirshfeld surface of (I) mapped over a dnorm range of -0.5 to 1.5 Å is illustrated in Figure 6. The dominant interaction between the amino hydrogen and carboxylic oxygen atoms in (I) can be seen as bright red spots. The dnorm surfaces plot of (I) is consistent with the analysis of the packing patterns as discussed in the X-ray crystal structure analysis.

The combination of de and di in the form of two-dimensional fingerprint plot gives the summary of intermolecular contacts in the crystal lattice. The fingerprint plots of the multicomponent 2-aminopyridinium semi-malonate (**I**) are shown in Figure 7. It is evident from the fingerprint plots of this compound that O···H (41%) and H···H (33.1%) intercontacts play a central crucial role in the stabilization of molecules in the crystal structure.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

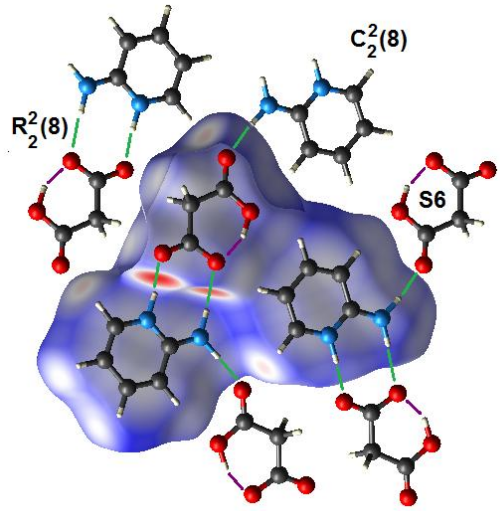


Figure 6. *Hirshfeld surface mapped with dnorm for (I) visualizing the intercontacts of the molecules*

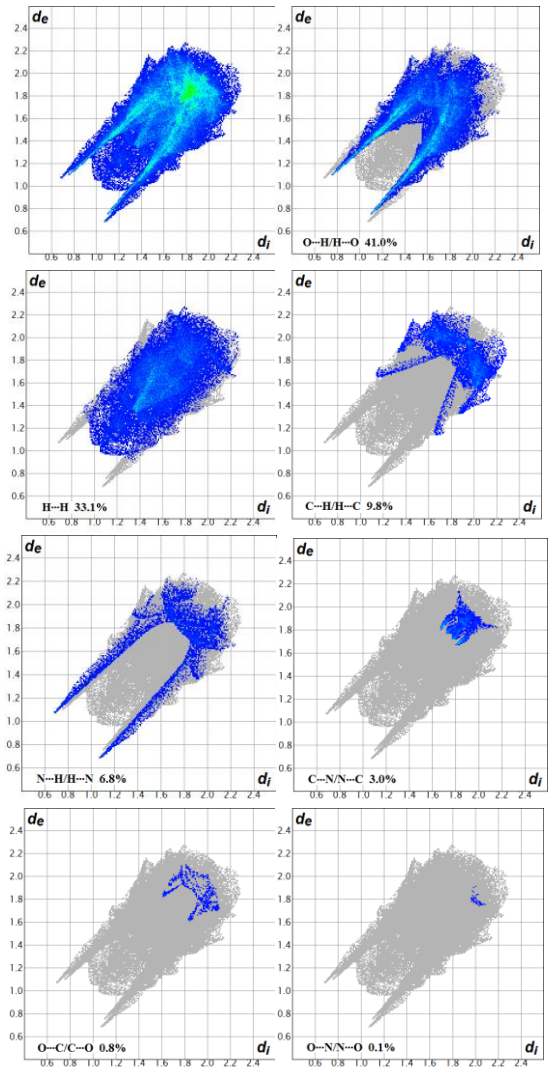


Figure 7. *2D fingerprints for (I)*

CONCLUSIONS:

The molecular complex formed between malonic acid and 2-aminopyridine was synthesized and characterized by single-crystal X-ray diffraction. This structure crystallizes in a monoclinic system with space group $P2_1/n$. This molecular complex (salt) can be described as an ionic ensemble assisted by hydrogen bonds. Crystal structure results and Hirshfeld surface analysis shows how the structure of (**I**) is built up from self-assembly of molecules via N---H···O interactions, and further stabilized by weak C---H···O hydrogen bonds.

This work shows a good example of synthesis and characterization of a co-crystal formed between the pharmaceutical conformer's 2-aminopyridine and malonic acid, which can contribute to the pharmaceutical industry.

ACKNOWLEDGMENTS:

This work was supported by CDCHT-ULA (grant C-1987-17-08-B), FONACIT (grant LAB-97000821) and LOCTI (grant 2007-0003).

REFERENCES:

1. Morissette, S. L., Almarsson, O., Peterson, M., Remenar, R., Read, M., Lemmo, A. *Adv. Drug Del. Rev*. **2004**, *56*, 275.
2. Desiraju, G. R. *CrystEngComm*, **2003**, *5*, 466.
3. Aakeröy, C. B., Salmon, D. J. *CrystEngComm*, **2005**, *7*, 439.
4. Vishweshwar, P., McMahon, J. A., Bis, J. A., Zaworotko, M. J. *J. Phar. Sci*., **2006**, *95*, 499.
5. Blagden, N., Matas, M., Gavan, P., York, P. *Adv. Drug Del. Rev*., **2007**, *59*, 617.
6. Jones, H. P., Davey, R. J., & Cox, B. G. (2005) J. Phys. Chem. B, 109, 5273.
7. Trask, A. V., Motherwell, W. D. S., Jones, W. *Cryst. Growth Des*., **2005**, *5*, 1013.
8. Aakeröy, C. B., Beatty, A. M., Helfrich, B. A. *Angew. Chem. Int. Ed*., **2001**, *40*, 3240.
9. Shan, N., Zaworotko, M. *Drug Discov. Today*, **2008**, *13*, 440.
10. Lemmerer, A., Bathori, N. B., Bourne, S. A. *Acta Cryst*., **2008**, *B64*, 780.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

11. Bis, J. A., Zaworotko, M. J. *Cryst. Growth Des.*, **2005**, *5*, 1169.

12. Gouda, M. A., Hussein, B. H. M., Sherif, Y. E. *Synth. Commun*., **2017**, 47, 1709.

13. Belandria, L. M., Mora, A. J., Delgado, G. E., Briceño, A. *Acta Cryst*., **2012**, *C68*, o88.

14. Mora, A. J., Belandria, L. M., Ávila, E. E., Seijas, L. E., Delgado, G. E., Miró, A., Almeida, R., Brunelli, M., Fitch, A. N. *Cryst. Growth Des*., **2013**, *13*, 1849.

15. Belandria, L. M., Mora, A. J., González, T., Delgado, G. E. *Av. Quím*., **2013**, *8*, 3.

16. Delgado, G. E., Varela, K. N., Mora, A. J., Bruno-Colmenárez, J., Atencio, R. *Mol. Cryst. Liq. Cryst*., **2015**, *609*, 218.

17. Chacón, C., Bruno-Colmenárez, J., Jamalis, J., Delgado, G. E. *Scientific Study & Research*, **2017**, *28*, 111.

18. Chacón, C., Jamalis, J., Henao, J. A., Delgado, G. E. *Tchê Chím.*, **2017**, *14*, 30.

19. Delgado, G. E., Belandria, L. M., Mora, A. J., Bruno-Colmenárez, J. Marroquín, G. *Tchê Quím.*, **2017**, *14*, 66.

20. Spackman, M. A., Byrom, P. G. *Chem. Phys. Letters*, **1997**, *267*, 215.

21. Boultif, A, Löuer, D. *J. Appl. Cryst*., **2004**, *37*, 724.

22. Le Bail, A. *Powder Diffr*., **2015**, *20*, 316.

23. Rodriguez-Carvajal, J. (2017) Fullprof, version 6.0, LLB, CEA-CNRS, France.

24. *Bruker APEX2*. Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA, 2010.

25. *Bruker SAINT*. Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA, 2009.

26. Sheldrick G. M. *Acta Cryst*. **2015**, *C71*, 3.

27. Sheldrick, G. M. *Acta Cryst*. **2008**, *A64*, 112.

28. Groom, C. R., Allen, F. H. *Angew. Chem. Int. Ed*. **2014**, *53*, 662.

29. McKinnon, J. J., Jayatilaka, D., Spackman, M. A. (2007) Chem. Comm., 37, 3814.

30. Spackman, M. A., McKinnon, J. J. (2002) CrystEngComm, 4, 378.

31. Chao, M., Schemp, E., Rosenstein, R. D. (1975) Acta Cryst., B31, 2922.

32. Etter, M. C. *Acc. Chem. Res*. **1990**, *23*, 120.

33. Etter, M. C., MacDonald, J. C., Bernstein, J. *Acta Cryst*. **1990**, *B46*, 256.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

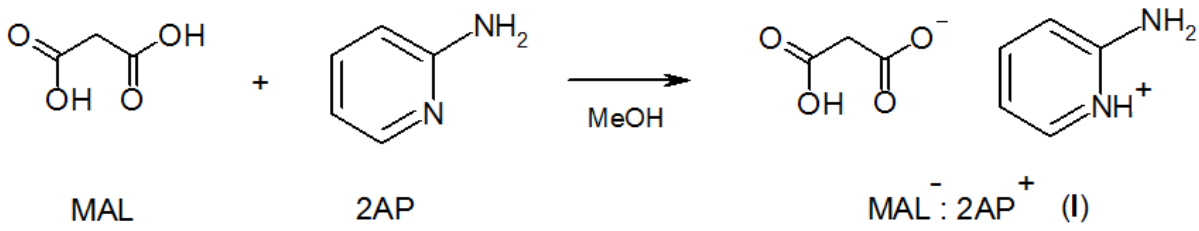
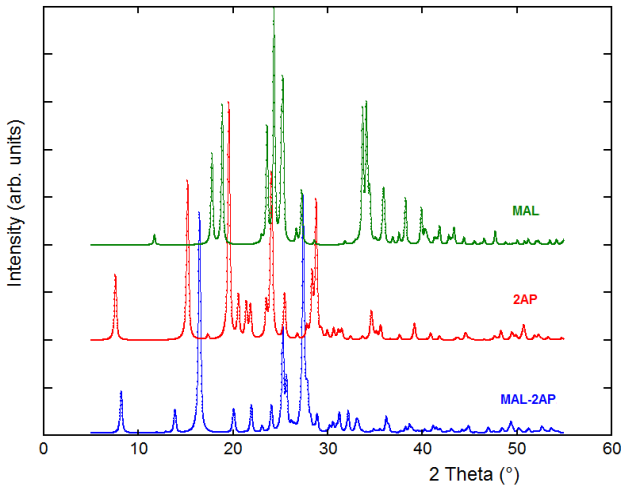
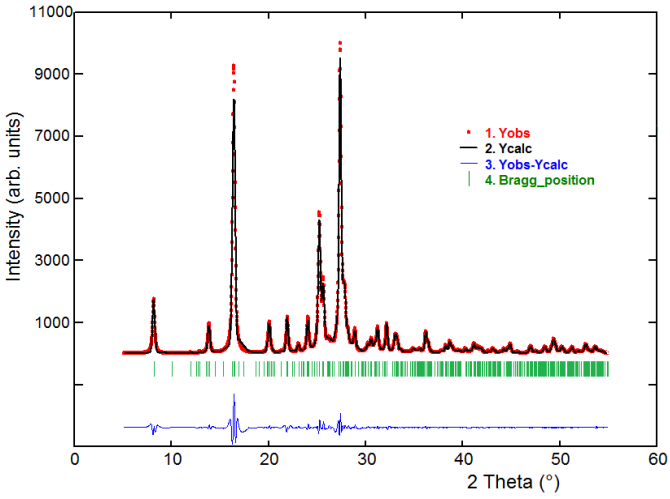


Figure 1. *Synthesis of 2-aminopyridinium semi-malonate (I)*



a)



b)

Figure 2. *a) X-ray powder diffraction patterns for MAL, 2AP and MAL−:2AP+ (I). b) Le Bail fit of the powder diffraction data for (I)*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 2 *Selected geometrical parameters (Å, º) for (**I**)*

C1-O1	1.301(8)	C1-O2	1.212(9)
C3-O3	1.262(7)	C3-O4	1.230(8)
C4-O5	1.298(8)	C4-O6	1.211(9)
C6-O7	1.239(7)	C6-O8	1.258(7)
C11-N1	1.329(7)	C11-N2	1.350(7)
N3-C16	1.333(7)	C16-N4	1.339(7)
C7-N2-C11	122.6(5)	N2-C11-C10	118.4(5)
C12-N4-C16	122.6(5)	N4-C16-C15	118.6(5)
N1-C11-N2	118.8(5)	N3-C16-N4	118.6(5)
O1-C1-C2-C3	3.4(9)	O5-C4-C5-C6	3.0(8)
O2-C1-C2-C3	-176.7(6)	O6-C4-C5-C6	-176.6(6)

Table 3 *Hydrogen bonds geometry (Å, º) for (**I**)*

D--H···A	D--H	H···A	D···A	D--H···A	Symmetry codes
N1---H1A···O3	0.86	2.00	2.951(6)	177	(i) -½+x, ½-y, ½+z
N2---H2···O4	0.86	1.80	2.657(6)	171	(i) -½+x, ½-y, ½+z
N1---H1B···O6	0.86	2.00	2.843(7)	166	(ii) -x,-y,1-z
N3---H3A···O8	0.86	2.10	2.953(6)	177	(i) -½+x, ½-y, ½+z
N4---H4···O7	0.86	1.80	2.659(6)	172	(i) -½+x, ½-y, ½+z
N3---H3B···O2	0.86	2.00	2.847(7)	166	(iii) ½-x, ½+y, ½-z
C2---H2A···O4	0.97	2.46	3.387(7)	159	(iv) 1-x,-y,-z
C5---H5A···O7	0.97	2.44	3.370(7)	160	(v) -x,-y,-z
C7---H7···O6	0.97	2.58	3.484(8)	163	(iii) ½-x, ½+y, ½-z
C12---H91O2	0.97	2.58	3.478(8)	163	(iv) 1-x,-y,-z
Intramolecular HB	0.97				
O1---H1···O3	0.82	1.71	2.474(6)	155	-
O5---H5···O8	0.82	1.70	2.467(6)	154	-

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

USO DE PLANEJAMENTO FATORIAL PARA AVALIAR O NÍVEL DE GERMINAÇÃO DE *L. sativa* E *L. esculentum* FRENTE A DUAS PLANTAS MEDICINAIS

USO OF FACTOR PLANNING TO EVALUATE THE LEVEL OF GERMINATION OF L. SATIVA AND L. ESCULENTUM FRONT OF TWO MEDICINAL PLANTSITLE IN CAPITAL

PIRES, Edjane Vieira [1*]; DE CARVALHO, Cenira Monteiro[2] ; DA COSTA, João Gomes[3]; PIRES, Georgiane de Alameida[4]; DA SILVA, Erika Matias[5].

[1,5] Universidade Estadual de Alagoas, Departamento de Química

[2] Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Química e Biotecnologia

[3]Embrapa Tabuleiros Costeiros/UEP

[4] Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Departamento de Ciências Exatas e Naturais,

** Autora correspondente*
e-mail: edjanevp@gmail.com

Received 15 November 2018; received in revised form 29 November 2018; accepted 06 January 2019

RESUMO

A aplicação exacerbada do controle químico na agricultura, traz diversos danos ao ambiente e ao homem, sendo os herbicidas uma dessas ferramentas rotineiramente utilizadas. Neste sentido, o estudo a seguir foi realizado com o objetivo de avaliar por meio de planejamento fatorial 2^3 qual ou quais fatores devem ser considerados para obtenção de melhores resultados experimentais de atividade inibitória germinativa. Assim foi observado a ação aletopática dos extratos aquosos de *Stryphnodendron adstringens* e *Anemopaegma arvense*, obtidos em duas temperaturas (25^{0}C e 100^{0}C) e frente a dois tipos de receptores (sementes de *Lactuca sativa* e sementes de *Lycopersicum esculentum*). Os testes foram realizados em duplicata com as concentrações 50% e 100% (v/v) de cada extrato. Sendo, portanto, temperatura do solvente extrator, característica da semente receptora e concentração do extrato aquoso da planta medicinal os fatores observados nesse planejamento experimental. Os resultados do planejamento fatorial mostraram, que o fator semente receptora foi predominantemente influenciador da atividade de *S. adstringens* e *A. arvense* como inibidores de germinação das espécies *L. sativa* e *L. esculentum* respectivamente, reforçando portanto, que a interação planta-planta segue uma especificidade ecofisiológica.

Palavras-chave: *bioherbicidas; planejamento experimental; interação planta x planta.*

ABSTRACT

The exacerbated application of chemical control in agriculture brings several damages to the environment and man, as the herbicides are one of these routinely used tools. In this sense, the following study was carried out with the objective of evaluating by means of factorial planning 2^3 which factors should be considered to obtain better experimental results of the germinative inhibitory activity. Therefore the allelopathic action of the aqueous extracts of *Stryphnodendron adstringens* and *Anemopaegma arvense*, obtained at two temperatures (25^{0}C and 100^{0}C) and two types of receptors (*Lactuca sativa* seeds and *Lycopersicum esculentum* seeds). The tests were performed in duplicate with the 50% and 100% (v/v) concentrations of each extract. Therefore, the temperature of the extracting solvent, characteristic of the receiver seed and concentration of the aqueous extract of the medicinal plant, are the factors observed in this experimental design The results of the factorial planning showed that the seed factor was predominantly influencing the activity of *S. astringens* and *A. arvense* as inhibitors of germination of *L. sativa* and *L. esculentum*, respectively, therefore reinforcing that the plant-plant interaction follows an ecophysiological specificity.

Keywords: bioherbicides; allelochemicals; plant x plant interaction.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

1. INTRODUÇÃO

A alelopatia pode ser considerada como "qualquer efeito direto ou indireto danoso ou benéfico que uma planta (incluindo microrganismos) exerce sobre outra pela produção de compostos químicos liberados no ambiente" (Rice, 1984). Tais compostos químicos são metabolitos ou substâncias orgânicas pertencentes a algumas classes principais como: Flavonoides, Monoterpenos, antroquinonas, Saponinas, Sesquiterpenos, Taninos, Triterpenos entre outros (Ferreira; Aquila, 2000; Hussain, 2011). Esses compostos alelopáticos podem atuar como bioherbicidas e minimizarem os efeitos negativos causados pelos herbicidas sintéticos.

Os herbicidas são pesticidas utilizados na agricultura, comumente para o controle de ervas daninhas. Os problemas que podem decorrer da utilização indiscriminada de herbicidas são: a contaminação ambiental, o surgimento de ervas resistentes e danos à saúde humana (Peres; Moreira 2003; Almeida, 2010; Dayan *et al*., 2009; Strandberg *et al*., 2012).

De acordo com Pires *et al*. (2001), o efeito alelopático pode ser classificado em dois tipos: autotoxicidade e heterotoxicidade. Autotoxicidade é um mecanismo intraespecífico de alelopatia que ocorre quando uma espécie de planta libera determinada substância química (aleloquímicos) que inibe ou retarda a germinação e o crescimento de plantas da própria espécie, e heterotoxicidade, ocorre quando uma substância com efeito fitotóxico é liberada por determinada planta afetando a germinação e o crescimento de plantas de outra espécie.

Os aleloquímicos, incluindo os de ação alelopática são resultantes do metabolismo secundário, produzidos durante todo o ciclo de vida da planta. Essas substâncias estão presentes em todos os órgãos como folhas, flores, frutos, raízes, caules e sementes (Gusman *et al*., 2012 Soltys *et al*., 2013). Sua produção nos vegetais pode ser influenciada por diversos fatores entre eles, temperatura, umidade, índice de precipitação, radiação e variação sazonal (Viecelli; Cruz-silva, 2009). Com relação ao mecanismo de ação destes metabólitos, os mesmos afetam vários processos fisiológicos como exemplo, inibição da porcentagem da germinação, velocidade da germinação das sementes e redução do crescimento inicial das plântulas e plantas (Silveira, *et al* 2012). Esses efeitos são causados principalmente devido a inibição da atividade enzimática, provocada pelo composto ativo (Soltys *et al*., 2013).

Em suma, os experimentos que avaliam a alelopatia se fundamentam na exposição de sementes modelos, que são bastante sensíveis a vários aleloquímicos, frente a metabolitos secundários extraídos de plantas pelos mais diversos métodos. Entre as sementes podemos citar as de tomate, picão-preto, soja, sorgo, repolho, rabanete, feijão, milho, couve, mostarda, entre outros também são utilizados (Brito, 2010; Corsato *et al*., 2010; Gusman *et al*., 2012; Gusman *et al*., 2011). A maioria das substâncias alelopáticas são total ou parcialmente solúveis em água, o que as tornam mais viáveis para pesquisa e aplicação (Dayan *et al*., 2009; Vyvyan, 2002).

Há na literatura relatos de plantas medicinais que demonstraram efeito destas sobre o crescimento e desenvolvimento de plantas daninhas como os encontrados por Alves *et al*. (2011) que comprovaram o potencial alelopático de quatro plantas medicinais, erva-botão (*Eclipta alba*), margaridão (*Tithonia diversifolia*), perpétua-roxa (*Gomphrena globosa*) e leitero de vaca (*Tabernaemontana catharinensis*) sob as espécies de picão-preto (*Bidens pilosa*) e alface (*Lactuca sativa L*.).

Os extratos de plantas alelopáticas podem ser uma alternativa que, além de diminuir os custos de aplicação de herbicidas sintéticos, também melhora a produção das culturas. Os exemplos mais conhecidos de bioherbicidas são extratos aquosos da forragem de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench.) (sorgaab) e girassol (*Helianthus annuus L*.) (sunfaag) que podem ser efetivamente usados na proteção de plantas sem perdas de rendimento (Soltys *et al*., 2013). No Brasil o uso de compostos químicos derivados do grão de milho como herbicida natural para o controle de plantas daninhas em mono e dicotiledóneas pré-emergentes, já ocorre e é um exemplo bem-sucedido de pesquisa (Junior *et al*., 2002).

A espécie *Stryphnodendron adstringens* (Martius) Coville é uma planta da família Fabaceae, conhecida como Barbatimão, típica do cerrado brasileiro e tem distribuição geográfica ampla, com altas densidades em várias localidades do Brasil. Ela ocorre em formações de cerrado primário e secundário e é bastante utilizada na medicina popular no tratamento de úlceras, inflamações e dores no corpo (Moreira, 1862; Borges Filho; Felfili 2003; Albuquerque *et al*., 2007; Santos, 2008). A casca do caule e as

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

folhas desta planta contêm quantidades consideráveis de taninos, flavonóides, proantocianidinas e prorobinetinidinas (Mello *et al*. 1996a, b). Sendo, portanto, uma espécie quimicamente promissora e que deve ter seu potencial alelopático avaliado.

Em estudos realizados por Ribeiro *et al*. (2012), observou-se que o extrato aquoso foliar de *Stryphnodendron adstringens* possuem substâncias como compostos fenólicos e flavonóides com efeitos inibitórios sobre os processos de germinação e proliferação celular de alface em torno de 34% em relação ao tratamento controle, indicando efeito alelopático.

Anemopaegma arvense (Vell) Stellf. ex de Souza é uma espécie da família Bignoniaceae, nativa do cerrado brasileiro e comumente conhecida como "catuaba". Trata-se de uma espécie popularmente empregada pelo seu potencial afrodisíaco (Manabe *et al*., 1992; Pereira *et al*., 2007). Os principais componentes identificados em *A. arvense* são flavonóides, catuabins, alcalóides, taninos e resinas (Charam, 1987; Zanolari *et al*., 2005; Tabanca *et a*l., 2007). Constanzo *et al*. (2013) fez o isolamento de alguns flavonóides presentes nas folhas de *A. arvense* e constatou a atividade antifúngica significativa dos mesmos.

Em seus estudos, Baggio (2014) mostrou, que o aumento da temperatura de extração proporcionou um aumento nas quantidades de cumarinas totais extraídas da espécie *Pterocaulon balansae*. Também analisando o efeito da temperatura sobre o conteúdo extraído, Vedana *et al*. (2008), observou que a trituração associada a uma extração hidroalcoólica quente favoreceu a um maior rendimento dos compostos fenólicos e consequentemente ao aumento da atividade antioxidante. Ou seja, um valor de temperatura maior, permitiu uma maior extração de compostos fenólicos, através do processo de decocção.

No que se refere aos solventes orgânicos, existem várias abordagens diferentes para avaliar o grau de toxicidade destes antes de iniciar seu uso. Como usualmente não são incorporados ao produto final, contribuem com uma grande quantidade de resíduo, o que é agravado em processos multietapas devido à presença dos vários solventes e das diversas operações de purificação (Ferreira *et al*, 2014). Os guias de seleção de solventes, desenvolvidos principalmente na indústria farmacêutica, permitem ter uma noção prévia sobre os problemas ambientais, de saúde e de segurança no manejo de um solvente (Henderson *et al*., 2011; Alfonsi *et al*., 2008). Embora, em tese, os solventes possam ser reciclados, muito se perde para o meio ambiente antes da sua eliminação. Com isso, nesse estudo buscou-se não fazer uso de quaisquer solventes orgânicos

O conhecimento da ação alelopática de espécies nativas ainda é incipiente no Brasil, considerando-se a extensão territorial e a diversidade florística (Maraschin-silva; Aqüila, 2006). Os efeitos alelopáticos de plantas medicinais sobre sementes de plantas daninhas podem gerar modos alternativos de ação, maior especificidade, e por causarem menos danos ambientais são candidatos para o desenvolvimento de novos modelos de herbicidas. Assim, o presente trabalho teve como objetivo apontar através da análise fatorial dentre os fatores; temperatura do solvente extrator, característica da semente receptora e concentração do extrato aquosos da casca do caule da planta; qual ou quais devem interferir para melhores resultados de ação alelopática das espécies *S. adstringens* e *A. arvense*, sobre *Lactuca sativa L.* e *Lycopersicon esculentum*.

2. PARTE EXPERIMENTAL

Para a realização dos experimentos as cascas de *S. adstringens* e *A. arvense* foram coletadas na região agreste do estado de Alagoas e submetidas à desinfecção por imersão em solução aquosa de hipoclorito de sódio a 2%, por 2 minutos, seguidos de enxágue com água destilada e da secagem (12 horas) sobre papel na bancada em laboratório (Silveira *et al*., 2012).

Após a secagem as cascas foram quebradas manualmente e foram pesadas duas porções de 50 g das cascas. Em seguida foram preparados dois tipos de extratos. No primeiro, as cascas foram colocadas em um béquer e adicionou-se 500 mL de reagente água tipo IV (Conforme ASTM D1193 – 06. 2018 Standard Specification for Reagent Water) a temperatura ambiente (25 °C), e no segundo as cascas foram colocadas num béquer e adicionou-se 500 mL de reagente água tipo IV a temperatura de 100 ºC.Os béqueres permaneceram envolvidos em papel alumínio e o material ficou em repouso por um período de 24 horas.

A solução foi filtrada através de papel de filtro. A partir desse extrato bruto (considerado como 100% de concentração), foi preparada a concentração 50% (v/v). Tendo-se, portanto a realização do tratamento em duplicata e sendo

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

utilizado reagente água tipo IV como controle (0%).

No ensaio de germinação foram utilizadas placas de Petri esterilizadas de 9 cm de diâmetro, forradas com 2 discos de papel-filtro, umedecidos com 7,5 mL dos referidos tratamentos. Em cada placa foram adicionadas 20 sementes de alface (*Lactuca sativa*), após essa etapa, as placas foram mantidas em temperatura constante (25 °C) em ambiente estéril, com fotoperíodo de 12 h, durante 7 dias, em condições de igualdade para todas as placas. Os procedimentos citados anteriormente foram os mesmos usados para o ensaio com as sementes de Tomate (*Lycopersicon esculentum*).

Após o período de sete dias foi observado e registrado o número de sementes germinadas em cada tratamento. As sementes foram consideradas germinadas conforme descrito por Borghetti; Ferreira (2004) e Ferreira; Aquila (2000), ou seja, quando se tornou visível a protrusão da radícula através do tegumento.

2.1. Planejamento fatorial

Foi proposto um planejamento fatorial completo para avaliar três variáveis do ensaio de alelopatia: Temperatura do Solvente Extrator – TSE, Sementes Receptora - SR e Concentrações de Extrato – CE. Estas variáveis foram estudadas em dois níveis, através de um planejamento 2^3 (total de 8 experimentos), tendo com respostas as medições de sementes germinadas e desenvolvimento de plântulas e partes aéreas em duplicata. A Tabela 1 apresenta os fatores estudados e seus respectivos níveis. Para identificar os efeitos principais e interações mais significativas para avaliar o potencial alelopático das espécies, foi usado o software MINITAB 18 (Minitab Institute, EUA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A Tabela 2 mostra os resultados de germinação de sementes observados nos ensaios, realizados em ordem aleatória e em duplicata. A matriz de planejamento lista os ensaios seguindo a ordem padrão. Todas as colunas começam com o nível inferior (-) e depois os sinais vão se alternando. De acordo com essa tabela, para a realização do ensaio 1, por exemplo, utilizou-se as seguintes variáveis do planejamento: Temperatura do Solvente Extrator – TSE, Sementes Receptora - SR e Concentrações de Extrato – CE; em seus níveis inferiores, obtendo-se, nestas condições, um valor médio de sementes germinadas igual a 39 quando ao trabalhar a espécie *S. adstrigens*.

Com base na matriz de planejamento das tabelas 2 e 3, foi possível construir a Tabela de coeficientes de contraste, multiplicando um a um dos sinais das colunas apropriadas para obter as novas colunas correspondente às interações de dois fatores e de três fatores mostrados na tabela 4.

De acordo com os efeitos calculados, a combinação ou interação entre os dois dos três fatores ou ainda a interação entre os três fatores, poderá ser determinante quanto ao número de sementes que germinam.

A análise dos resultados obtidos com a espécie *S. adstrigens*, revela que, os efeitos principais que tratam da temperatura do solvente de extração e da semente testada, separadamente são fatores que se destacam (tabela 4). Os outros estão próximos ao zero e podem ser negligenciados. Os fatores que envolve a concentração do extrato testado e as interações de dois ou três fatores, correspondem a apenas 6,5%, da somatória dos quadrados dos efeitos, enquanto os fatores temperatura do solvente de extração e da semente testada corresponde em torno de 94%, demonstrando importante influência na resposta germinativa em análise. Nesse sentido, deve-se seguir com o estudo da influência dos dois fatores significativos no intervalo de confiança de 95% ($p = 0,05$).

Percebemos ainda da tabela 4 que os efeitos dos fatores sementes receptoras e concentração do extrato foram maiores, considerando a espécie *A. arvense*, de modo que, segue-se como primícias, o fato de que as modificações desses fatores causam diferentes respostas de germinação. Entretanto o fator temperatura do solvente extrator não exerce influência sobre o número de sementes germinadas, dado que este fator não está dentro do intervalo de confiança de 95%, assim como as interações entre os três fatores estudados.

Os Extratos de diferentes partes da mostarda preta (*Brassica nigra L.*) como folha, caule, flor e a raiz inibiram a germinação e o comprimento radicular da aveia selvagem, de modo que, os efeitos inibidores de germinação aumentavam, com o aumento da concentração da solução do extrato (Turk, 2003). O interesse por esse campo da ciência começou a muito tempo atrás. A exemplo em 1990, Uygur, comprovou em seu trabalho que, o extrato de rabanete inibia a germinação das sementes de

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

onze ervas daninhas.

A figura 1 exibe os gráficos dos efeitos principais que influenciam a taxa de germinação. O gráfico do efeito principal é essencial para ilustrar a atuação dos fatores envolvidos no estudo, isto é, em que condição eles resultam em melhores respostas. Neste caso, são mostrados fatores variáveis: Temperatura do Solvente Extrator, Sementes Receptora e Concentrações de Extrato em dois níveis.

São diversos os fatores que influenciam na extração de metabolitos secundários como: a parte do material vegetal utilizada, a origem deste, o grau de processamento, o tamanho da partícula, o solvente utilizado, o tempo de extração, temperatura, polaridade e concentração do solvente (Tiwari *et al*., 2011; Dent *et al*. 2013; Oliveira *et al*, 2016). Sendo assim, alterações na temperatura, pode influenciar a composição fitoquímica do extrato resultante.

Observa-se que entre as variáveis investigadas a concentração do extrato de *S. adstrigens* não traz grandes alterações na média de sementes germinada (SG) (figura 1A). Ainda com base na figura 1 (A) a variável mais significativa na atividade foi a semente receptora, de modo que, as respostas obtidas com a troca da semente de *L. sativa* pela semente de *L. esculentum* são sempre superiores (maior número de sementes germinadas), o que revela que plantas invasoras de semelhante sensibilidade ao da espécie *L. sativa* poderão ter seus efeitos danosos controlados com a aplicação de extratos aquosos de *S. adstrigens*, em culturas atingidas. A análise dos resultados obtidos com a espécie *S. adstrigens*, revela que, os efeitos principais que tratam da temperatura do solvente de extração e da semente testada, separadamente são fatores que se destacam (tabela 4). Os outros estão próximos ao zero e podem ser negligenciados. Os fatores que envolve a concentração do extrato testado e as interações de dois ou três fatores, correspondem a apenas 6,5%, da somatória dos quadrados dos efeitos, enquanto os fatores temperatura do solvente de extração e da semente testada corresponde em torno de 94%, demonstrando importante influência na resposta germinativa em análise. Nesse sentido, deve-se seguir com o estudo da influência dos dois fatores significativos no intervalo de confiança de 95% (p = 0,05).

Percebe-se ainda da tabela 4 que os efeitos dos fatores sementes receptoras e concentração do extrato foram maiores, consideramos a espécie *A. arvense*, de modo que, segue-se como primícias, o fato de que as modificações desses fatores causam diferentes respostas de germinação. Entretanto o fator temperatura do solvente extrator não exerce influência sobre o número de sementes germinadas, dado que este fator não está dentro do intervalo de confiança de 95%, assim como as interações entre os três fatores estudados.

A figura 1 exibe os gráficos dos efeitos principais que influenciam a taxa de germinação. O gráfico do efeito principal é essencial para ilustrar a atuação dos fatores envolvidos no estudo, isto é, em que condição eles resultam em melhores respostas. Neste caso, são mostrados fatores variáveis: Temperatura do Solvente Extrator, Sementes Receptora e Concentrações de Extrato em dois níveis. Observa-se que entre as variáveis investigadas a concentração do extrato de *S. adstrigens* não traz grandes alterações na média de sementes germinada (SG) (figura 1A). Ainda com base na figura 1 (A) a variável mais significativa na atividade foi a semente receptora, de modo que, as respostas obtidas com a troca da semente de *L. sativa* pela semente de *L. esculentum* são sempre superiores (maior número de sementes germinadas), o que revela que plantas invasoras de semelhante sensibilidade ao da espécie *L. sativa* poderão ter seus efeitos danosos controlados com a aplicação de extratos aquosos de *S. adstrigens*, em culturas atingidas.

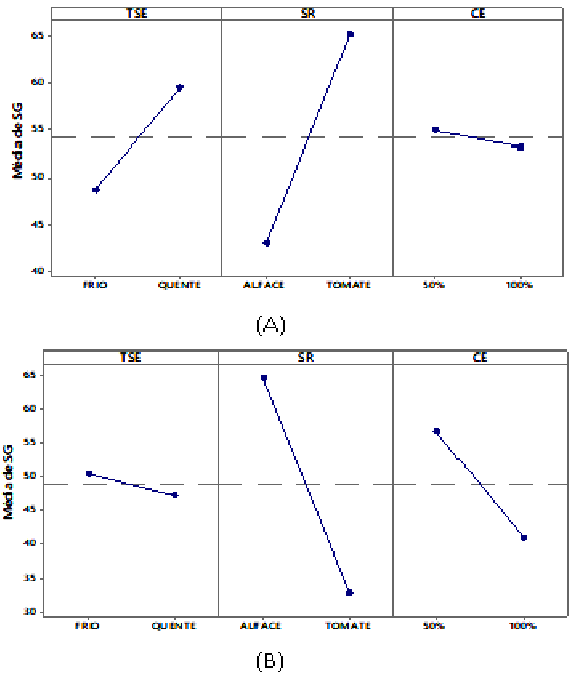


Figura 1. *Gráficos dos efeitos principais (A) Stryphnodendron adstrigens (B) Anemopaegma*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

arvense

A resistência ou tolerância aos metabólitos secundários que funcionam como aleloquímicos pode ser mais ou menos específica, existindo espécies mais sensíveis que outras, como por exemplo *Lactuca sativa* (alface) e *Lycopersicum esculentum* (tomate), por isso mesmo muito usadas em biotestes de laboratório.

A interferência dos extratos sobre a germinação depende do tamanho e estrutura das sementes (Hodgson e Mackey 1986). Pessotto e colaborador (2007), encontraram uma ação inibitória de germinação cerca de 33% maior em sementes de tomate frente a extrato de funcho (*Foeniculum vulgare*) do que em sementes de alface. Sementes de pimentão também se mostraram mais sensível, quando submetida a extratos aquoso de *Tithonia diversifolia* em comparação as sementes de tomate, com percentual de germinação de 22,5 e 90,0% respectivamente (Otusanya, *et al*, 2008).

Levando em consideração os valores dos efeitos principais e suas interações, bem como o que mostra o a figura 1(B) temos que o fator temperatura não mostrou significância e, portanto, a temperatura do solvente utilizado na preparação do extrato não irá trazer diferenças de atividade germinativa do extrato de *A. arvense*. A resposta de inibição de germinação com o extrato puro (100%) se mostra superior (figura 1B), o que tornaria mais fácil a prática da utilização da espécie como possível bioherbicida, ao passo que, não haveria a necessidade de preparar concentrações diminutas. Dentre as variáveis estudadas a semente receptora foi influente deixa claro, que sementes de *L. esculentum* e espécies correlacionadas são mais sensíveis a ação inibitória de *A. arvense*.

4. CONCLUSÕES:

Diante do exposto, através do uso de planejamento fatorial, tem-se que para obter maior efeito de inibição da germinação é preciso considerar o uso de espécies receptoras de sensibilidade similar a tomate (*L. esculentum*) quando frente ao extrato aquoso da casca do caule de *A. arvense* sem a necessidade de diluição do extrato puro. Os dados ainda revelam que, melhores atividades do extrato aquoso de *S. adstrigens* são obtidos ao utilizar espécies receptoras de sensibilidade similar à alface (*L. sativa)* e obter os extratos em temperatura em torno de 250 ºC.

6. REFERÊNCIAS:

1. Albuquerque, U. P. et al. *J. Ethnopharmacol.*, **2007**, 114, 325-354.
2. Alfonsi, K. et al. *Green Chem.*, **2008**, 10, 31-36.
3. Almeida L. M. S.; Dissertação de Mestrado, Universidade de Aveiro, Aveiro, **2010**.
4. Alves, L. L. et al. *Rev. Bras. Pl. Med.,* **2011**, 13, 328-336.
5. Borges, F. H. C.; Felfili, J. M. *Rev. Árvore*, **2003**, 27, 735-745.
6. Borghetti, F. & Ferreira, A. G. Germinação: do básico ao aplicado. Artmed, **2004**.
7. Brito, I. C. A.; Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande,**2010**.
8. Charam, I. *F. Méd.*, **1987**, 94, 303-309.
9. Constanzo, C. D. G. et al. *J. Pharm. Scienc.* **2013**, 49, 559-565.
10. Corsato, J. M. *Semina: Ciênc. Agrár.*, **2010**, 31, 353-360.
11. Dayan, F. E.; Cantrell, C. L.; Duke, S. *O. Bioorg. Med. Chem.*, **2009,** 17, 4022-4034.
12. Dent, M. et al. *Food Biotechnol.,* **2013**, 51, 84-91.
13. Ferreira, A. G.; Aquila, M. E. A. *Rev. Bras. Fis. Veg.*, **2000**, 12, 175-204.
14. Ferreira, V. F.; da Rocha, D. R.; da Silva, F. C. *Rev. Virtual Quím.*, **2014**, 6, 85-111.
15. Gusman, G. S.; Yamagushi, M. Q.; Vestena, S.; *Rev. Iheringia*, **2011**, 66, 87-98.
16. Gusman, G. S.; Vieira, L. R.; Vestena, S. Rev. *Biotemas,* **2012**, 25, 37-48.
17. Henderson, R. K. et al. *Green Chem.*, **2011**, 13, 854-862
18. Hodgson, J. G.; Mackey, J. M. L. *New Phytol.*, **1986**, 104, 497-515.
19. Hussain, M. I.; Reigosa, M. J. *J. Exp. Bot.*, **2011**, 62, 45-33.
20. Junior, O. P.; Santos, T. C. *Quím. Nova*, **2002**, 25, 589.
21. Manabe, H. et al. *In Vivo*, **1992**, 6, 161-165.
22. Maraschin, F. S.; Aquila, M. E. A. *Acta Bot. Bras.*, **2006**, 20, 61-69.
23. Mello, J. C. P.; Petereit, F.; Nahrstedt, A. *J. Phytochemistry*, **1996**, 41, 807-813.
24. Mello, J. C. P.; Petereit, F.; Nahrstedt, A. *J. Phytochemistry*, **1996**, 42, 857-862.
25. Otusanya, O. O.; Ikonoh, O. W.; Ilori, O. J. *Int. J. Bot.,* **2008**, 4, 471-475.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

26. Oliveira, V. B. et al. *Rev. Bras. Pl. Med.*, **2016**, 18, 230-239.
27. Pereira, M. A. S. et al. *Genetic Resources and Crop Evolution*, **2007**, 54, 849-854.
28. Peres, F. & Moreira, J. C., *Fiocruz*, **2003**.
29. Pessotto, G. P.; PastorinI, L. H. *Rev. Bras. Biociênc.*, **2007**, 5, 990-992.
30. Pires, N. M. et al. *Rev. Bras. Fis. Veg.,* **2001**, 13, 55-65.
31. Ribeiro, L. de O. et al. *Rev. Bras. Biocienc.*, **2012**, 10, 220-225.
32. Rice, E. L. *Allelopathy.* 2ª ed. New York.: Academic Press, **1984**.
33. Santos, A. L. S.; Tese de Doutorado, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, **2008**.
34. Silveira, P. F.; Maia, S. S. S., Coelho, M. DE F. B. *Biosc. J.*, **2012**, 28, 472-477.
35. Soltys, D. et al. *Herbicides - Current Research and Case Studies in Use.* Croatia: In Tech DPT team, **2013**, Cap. 20
36. Strandberg, B. et al. *Pesticid*. 137, **2012**.
37. Tabanca, N. et al. *Pl. Med.*, **2007**, 73, 1107-1111.
38. Tiwari, P. *Int. Pharm. Scienc.*, **2011**, 1, 98-106.
39. Turk, M. A.; Shatnawi, M. K.; Tawaha, A. M. *Weed Biology and Management,* **2003**, 3, 37- 40.
40. Uygur, F. N. *J. Plant. Diseases and Protection*, **1990**, 12, 259-264.
41. Vedana, M. I.S. et al.; Tese de Doutorado e Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, **2008**.
42. Viecelli, C. A.; Cruz, C. T. A. *Rev. Semina: Ciênc. Agrár.*, **2009**, 30, 39-46.
43. Vyvyan, W. R. *Tetrahedron*, **2002**, 58, 16-32,
44. Zanolari, B. *J. Nat. Prod.*, **2005**, 68, 1153-1158.

Tabela 1. *Variáveis do Planejamento Fatorial 2^3 e os dois níveis que foram testados.*

VARIÁVEIS	NÍVEL(-)	NÍVEL (+)
Temperatura do solvente extrator-TSE	25 °C	100°C
Sementes Receptora - SR	Alface	Tomate
Concentrações de Extrato- CE	50%	100%

Tabela 2. *Matriz de Planejamento Fatorial 2^3 para o teste de germinação com S. adstrigens, e os respectivos resultados de sementes germinadas.*

Ensaios	Média	TSE	SR	CE	Sementes	germinadas (y_i)	Média ($\check{y}_i$)
1	+	-	-	-	24	15	39
2	+	+	-	-	26	18	44
3	+	-	+	-	39	25	64
4	+	+	+	-	40	33	73
5	+	-	-	+	19	18	37
6	+	+	-	+	32	20	52
7	+	-	+	+	27	23	55
8	+	+	+	+	37	32	69
Divisor	8	4	4	4		Média Total ($\check{y}$)	54,12

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 3. *Matriz de Planejamento Fatorial 2^3 para o teste de germinação com A. arvense, e os respectivos resultados de sementes germinadas.*

Ensaios	**Média**	**TSE**	**SR**	**CE**	**Sementes**	**germinadas (y_i)**	**Média ($\breve{y}_i$)**
1	+	-	-	-	30	39	69
2	+	+	-	-	25	30	55
3	+	-	+	-	23	35	58
4	+	+	+	-	09	11	20
5	+	-	-	+	31	38	69
6	+	+	-	+	14	20	34
7	+	-	+	+	27	36	63
8	+	+	+	+	15	08	23
Divisor	8	4	4	4		Média Total ($\breve{y}$)	48,87

Tabela 4. *Efeitos das variáveis e das interações calculados para o planejamento fatorial 2^3.*

Fatores e interações	**Valores dos efeitos**	
Fatores principais	*S. adstrigens*	*A. arvense*
TSE	10,75	-3,25
SR	22,25	-31,75
CE	-1,75	-15,75
Interação de dois fatores		
TSE X SR	0,75	-5,75
TSE X CE	3,75	7,25
SR X CE	-4,75	-7,25
Interação de três fatores		
TSE X SR X CE	-1,25	4,75

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

MERCÚRIO E METILMERCURIO EM ÁGUAS SUPERFICIAIS DE REGIÕES ÁRIDAS E ÚMIDAS E O PAPEL DOS ÁCIDOS HUMICOS NA MIGRAÇÃO DO MERCÚRIO

MERCURY AND METHYLMERCURY IN SURFACE WATERS OF ARID AND HUMID REGIONS, AND THE ROLE OF HUMIC ACIDS IN MERCURY MIGRATION

СОДЕРЖАНИЕ РТУТИ И МЕТИЛРТУТИ В ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДАХ ЗАСУШЛИВЫХ И ВЛАЖНЫХ РЕГИОНОВ, И РОЛЬ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ В МИГРАЦИИ РТУТИ

Safonov V.A.[1*], Danilova V.N.[1], Ermakov V.V.[1], Vorobyov V.I.[2]

[1]Vernadsky V.I. Institute of geochemistry and analytical chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

[2]Astrakhan State University, Russia

** Corresponding author*
sakhsakh@yandex.ru

Received 03 November 2018; received in revised form 05 January 2019; accepted 06 January 2019

RESUMO

Utilizando os métodos de extração seletiva, absorção atômica e cromatografia gás-líquido, determinamos que as águas fluviais e lacustres em regiões áridas e / ou úmidas diferem em seus índices de conteúdo total e alquilado de mercúrio. Níveis elevados de mercúrio em águas de paisagens áridas (por exemplo, no Quirguistão) não ativam o processo de metilação do metal. São discutidas as características da interação de compostos de mercúrio e húmicos como os ácidos fúlvico (AF) e húmico (AH). Verifica-se que os AF promovem a dispersão de mercúrio na biosfera devido à formação de complexos fúlvicos e à metilação abiogênica do mercúrio, resultando em compostos organomercúricos tóxicos. Os AH manifestam altos níveis de capacidade de sorção em relação aos íons de mercúrio e servem como sorventes. Em uma interação competitiva no sistema AH-Hg-AH, Kd para o mercúrio diminui bruscamente com um aumento na concentração de AF e no sistema pH. O metabolismo do mercúrio na biosfera em termos de seu conteúdo no complexo solo-planta é discutido.

Palavras-chave: *ácido húmico, ácido fúlvico, mercúrio*

ABSTRACT

Using the methods of selective extraction, atomic absorption, and gas-liquid chromatography, we determined that the river and lake waters in arid and/or humid regions differ in their total and alkylated mercury content indices. Mercury high content levels in waters of arid landscapes (e.g., in Kyrgyzstan) do not activate metal methylation process. The features of the interaction of mercury and humic compounds like fulvic (FA) and humic (HA) acids are discussed. The FA are found to promote mercury dispersion in the biosphere due to the formation of fulvic complexes and abiogenic methylation of mercury resulting in the toxic organomercuric compounds. The HA manifest high sorption capacity levels in relation to mercury ions and serve as sorbents. At a competitive interaction in the system FA-Hg-HA, Kd for mercury drops sharply with an increase in FA concentration and pH system. The metabolism of mercury in the biosphere in terms of its content in the soil-plant complex is discussed.

Keywords: *humic acid, fulvic acid, mercury*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

АННОТАЦИЯ

Используя методы селективной экстракции, атомной абсорбции и газожидкостной хроматографии, мы определили, что речные и озерные воды в засушливых и/или влажных районах различаются по их общему и алкилированному показателю содержания ртути. Высокий уровень содержания ртути в водах засушливых ландшафтов (например, в Кыргызстане) не активирует процесс метилирования металлов. Обсуждаются особенности взаимодействия ртути и гуминовых соединений, таких как фульвиновая (FA) и гуминовая (HA) кислоты. Было обнаружено, что FA способствует ртутной дисперсии в биосфере из-за образования фульвовых комплексов и абиогенного метилирования ртути, приводящего к токсическим органокурьерным соединениям. HA проявляют высокие уровни сорбционной емкости по отношению к ионам ртути и служат сорбентами. При конкурентном взаимодействии в системе FA-Hg-HA, Кд для ртути резко падает с увеличением концентрации FA и системы pH. Обсуждается метаболизм ртути в биосфере с точки зрения ее содержания в почвенно-растительном комплексе**.**

Ключевые слова: *гуминовая кислота, фульвовая кислота, ртуть*

INTRODUCTION

Mercury is one of the most toxic trace element and included in the list of priority pollutants [4, 19]. Possessing some specific physical and chemical features, mercury is a good migrant in the environment, depending on the current conditions accumulating and redistributing in the components of water and surface ecosystems, gas and water environments [3, 8]. Among the wide range of various interactions running in natural environments, the following processes are outlined as principal for the solution phase: a) hydrolysis of mercury (II) ions and their complex formation to FA [10], and b) abiogenic and biogenic methylation of mercury [4-7].

MATERIALS AND METHODS

The sampling areas with high levels of mercury, situated in the South-Western part of Osh region of the Kyrgyz Republic: mines Khaidarken and Chauvay (Hg-As-Sb), Kadamzhay mine (Sb-As-Hg) [8]. The background regions were Krasnodar reservoir, Northern Dvina river near Arkhangelsk and others (Russia). Within these territories were selected the water samples, different organisms (aquatic and terrestrial plants, insects, fishes, frogs, lizards organs and tissues of sheep), sediments, and soil.

Mercury interaction with FA was studied by a method of solubility in microvariant. The molecular mass distribution of mercury (II) fulvic complexes was studied by filtration through a Sephadex G-25 column [20]. The experiments for mercury sorption on HA and the interactions in a three-component system were conducted in cylindrical Teflon vessels with screw-on lids. The mercury content levels in the solutions were determined using a method of cold vapor with atomic-fluorescent registration of the analytical signal, and AES-ICP method [2, 5, 16]. FA concentrations were determined using a spectrophotometric method from solution absorbancy indices at λ=420 nm. The methylmercury concentrations were determined using gas-liquid chromatography with an electronic capture detector following an extraction concentrating with benzol (toluene) from acid solutions in the cold [5, 10].

RESULTS

In the course of the surveillance of various areas with different mercury levels in the environment (the Northern Dvina, Moscow suburbs, Kuban, and South Kyrgyzstan) some data array has been obtained on mercury and alkylmercury in various natural objects including natural surface waters. Methylmercury was found to exist in water ecosystems and water organisms only. Neither methyl- (MMC) nor ethylmercury chloride was found in the soils, soil microorganisms biomass or plants with the method sensitivity level of 0.5 to 1.0 ng/g [6, 7].

The water analyses revealed the following:

- methylmercury concentrations in surface waters vary ranging from < 2 to 80 ng/l, making 4 to 50% of their total content at a solution (filtrate) phase;

- at a sharp increase in total mercury concentrations in natural waters, methylmercury levels rise slowly while methylated mercury percentage drops (see Fig. 1);

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

- a tendency of a positive correlation between methylmercury content levels in the waters and the bottom deposits (i.e., soil or silt) is noted;

- along with the higher coefficients of mercury biological absorption by organisms in arid regions as compared to the humid ones, a tendency of still more intensive mercury alkylation in a water environment is observed. However, in the conditions of hot climate methylmercury can migrate from reservoirs to the atmosphere and decompose being affected by solar radiation.

Among the aspects of abiogenic methylation, reactions with the implication of humic substances are of substantial significance.

The humic substances (HS) are complex mixtures of high molecular organic compounds of natural origin formed through the plant and/or animal organic residues decomposition. They represent a macro component of the organic matter of both the soil and the water ecosystems. HS are subdivided into three constituents, namely humin, which is an inextractable residue, humic acids (HA) and fulvic acids (FA).

To estimate the role of fulvic acids in organomercuric compounds formation, the influence of time period of mercury (II) exposure to FA solution(s) upon mercury alkylation process has been investigated on a model system (see Fig. 2). As follows from the figure, the methylation process, having reached a certain level, is replaced or hampered by a reverse process of dealkylation.

Nevertheless, it should be noted that the interaction of mercury (II) with FA in natural environments results not only in appearing some rather toxic organomercuric compounds formed through abiogenic methylation, but also in drastic growth of mercury migratory capacity as seen both in waters and soils due to formation of stable & soluble mercury (II) fulvic compounds [11, 21].

We chose elemental mercury, and mercuric sulfide as the original mercury (II) compounds in the fulvic acid - Me model system.

Elemental mercury is a major form of mercury existence in the atmosphere; when reaching the earth surface together with atmospheric precipitates, it interacts with soil and/or water-organic substances.

Also, investigations into model systems using mercuric sulfide as the element basic mineral form as seen in the Earth's crust were of some interest for the understanding of mercury migration mechanism in the biosphere.

The dependence of elemental mercury and mercuric sulfide solubility on fulvic acid concentrations was investigated at various pH values of 5.0, 6.0 and 7.0.

Together with the growth of FA concentrations in the systems under investigation, mercury concentrations also increased notably (Fig. 3), which is due to the complex formation processes. The data for the solubility method allows identification of the mercury fulvic complexes composition and stability indices. The Hg:FA correlation in the complex compounds was graphically established as a slope ratio of the lines. The obtained tg α values point to the prevalence of fulvic complexes with Hg:FA composition =1:1 in equilibrium solution for FA associated with the average molecular weight Mw = 2200 characteristic for pH = 5.0.

The results of the calculations for conditional constants of the mercury (II) fulvic complexes stability as obtained in the course of analyzing the Hg0-FA and HgS-FA systems are summarized in Table. 1.

We determined that highly durable & soluble complex compounds are formed in the fulvic systems containing elemental mercury and mercuric sulfide. The values of conditional stability constants for mercury (II) fulvic complexes linearly depend on pH, which is conditioned by some FA specific features, namely by their tendency to make reversible associations and a possibility of structural rearrangements within FA molecules due to pH rates growth.

The molecular mass distribution of the mercury (II) fulvic complexes was studied using a gel filtration method. The experimental data suggest that more than 70% of mercury is evaluated in fractions with the output volumes characteristic of substances with molecular weights ranging from 600 to 5000 Da.

Thus, the model system Hg-FA the high molecular mercury complexes with associated FA forms drastically prevail in the solutions, which promotes metal migration within environmental objects.

Being somewhat higher molecular and slightly soluble, the humic acids in natural objects behave as complex-forming sorbents, promoting metal concentration in soils, water suspensions, and bottom deposits. Using the Hg-humic acid

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

model system, characteristics of ash-free HA preparations as extracted from turf, marine sediments, and sapropel, as well as the mechanism of their interactions with mercury ions, were studied. The HA sorption capacity indices with relation to mercury ions are high enough reaching 300 to 340 mg/g for HA extracted from turf and sapropel, and 175 mg/g for the HA found in marine sediments (see Fig. 4).

From the sorption isotherms, the conditional constants of mercury affinity to HA sorption centers were calculated using a method of quantitative physical & chemical analysis, their logarithm values ranging within 4.1 to 4.95.

Thus, HA serves as an effective natural geochemical barrier concentrating mercury.

The actual mercury mobility in the biosphere is controlled by the competition of metal-FA versus HA complex formation processes (Fig. 5). With the growth of FA concentrations, mercury distribution (Kd) in the FA-Hg(II)-HA model system drops noticeably.

At the competitive interactions in the systems mercury fulvate-HA and Hg(II)-FA-HA (see Table 1), mercury distribution coefficient drops by one or two orders: a) with the increase in FA concentrations (at a constant pH value), б) with the pH growth from 2 to 6 (at a constant FA concentration).

Consequently, with the growth of pH values and watercolor indices due to the competitive mercury-FA or –HA complex forming, mercury dispersion over natural landscapes pronouncedly grows up, while at low pH levels and weak watercolor the mercury sorption on HA dominates, i.e., there is a process of mercury accumulation in environmental objects.

Transformation of mercury

The anomalies with the high content of mercury in the environment and organisms are a striking example of azonal natural-technogenic and technogenic biogeochemical (BGC) provinces, for example, Haidarken, Kadamzhay, Chauvay, of a primary and secondary genesis [8]. BGC provinces are characterized by abnormal high concentration of mercury, antimony, and arsenic in BGC food chains and manifestation of the pronounced biological reactions of organisms (accumulation of elements, the transformation of mercury, morphological changes in plants, toxicoses of man and animals). The chronic mercury toxicosis of sheep is characterized by a decrease of a hemoglobin level, catalase and glutathione peroxidase activities, blocking of thiol groups, violation of synthesis of thyrotrophic hormones, calcium-phosphoric metabolism. The increase of the content of mercury in the environment and bodies of animals is accompanied by a sharp activation of synthesis of metallothionein, decreasing during mercury detoxication by sodium thiosulfate [8, 9].

Under the high content of mercury in soils (about 240 mg/kg), landscape plants (about 184 mg/kg), biomass of microorganisms (about 160 mg/kg), organs and tissues of animals (about 10 mg/kg) from BGC mercury provinces of alkyl mercury compounds practically are not revealed in this objects. The methylmercury presents mainly in water, ground sediments, water organisms, some insects (for example, larvae and pupae of mosquitoes), amphibian and reptiles. The methylation form of mercury (from the common concentration of metal) accounts about 46, 28 and 18 % in fishes, frogs, and lizards respectively. About 20 % of mercury in methylation form migrates in natural waters, especially during the maximal biological activity of reservoirs. The content of alkyl mercury in water tanks of mercury provinces is higher only in 1,5 - 2 times than the level of methylmercury in natural waters of a European part of Russia [4].

The experimental data specifies the prevalence of transformation of mercury into methylmercury in a water medium. Its dealkylation, interaction with thio- and disulfide groups of proteins, peptides and amino acids with the subsequent neutralization in sulfide form takes place in overland organisms. Probably the mercury methylation is a reflection of alkylation, dominant in the condition of a primary atmosphere and hydrosphere of the Earth, which has the reductive character. As a whole, the subsequent evolution of organisms and the biosphere has resulted in the loss of this mechanism, especially during the increased mercury inhalation from bowels of the Earth. In this condition, the bigger part of organisms becomes capable of desalkylate methylmercury synthesized in the biosphere by biogenic and abiogenic ways. We determine precisely this process in overland organisms [3, 4, 13].

The process of methylation Hg(II) in water medium depends on the temperature, pH, Eh, the concentration of an element, type of water, the content of organic matters and total microbiological activity of medium. It seems that

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

the methylation, reaching a certain level, is changed and braked by the reverse process of dealkylation. The methylation takes place on suspended sediment of organic matters in water and in the top part of deposits.

Among the aspects of abiogenic methylation, except transformation by methylsilanes, two types of reactions, with the participation of methylcobalamin and substances of humic origin, have essential importance [18]. The organisms, capable of synthesis of CH4 from carbon dioxide and hydrogen, proved to be active concerning the mercury methylation. The enzymatic and unfermentative mercury methylation with the participation of three basic co-enzymes-S-adenosylmethionine, derivatives of 5, N - methyltetrahydrofolate and derivatives of vitamin B12 - cobalt (III) methylcorrinoides is possible in organisms. In the latter case, the carb-anion (CH3-) directly reacts with Hg2+. The speed of reaction depends from E10 (Fig. 6). If oxidation-reduction potential of an ion of metal is more than +805 mv, it methylates by carb-anion (for example, selenium, mercury, tellurium, lead), else, during the transport of radical (tin, arsenic, chromium). However, alkyls of lead, cadmium, and zinc are unstable in water solutions. There is also the formation of dimethylmercury during the process of transmethylation:

CH3-Hg+ → donor of a methyl group → CH3-Hg-CH3.

It is necessary to pay attention to the scheme of BGC transformation of mercury in the biosphere (Fig. 6).

The water and land ecosystems are precisely separated on it. The elementary and ion forms of mercury (II) are methylating to methylmercury–ion and dimethylmercury under the influence of anaerobic and aerobic microorganisms and organic matters - donors of a carbonic ion or radical [14, 15]. The latter, not keeping in a water medium, acts to the atmosphere, being decomposed to elementary mercury [23].

The HgO, which once again acts to hydrosphere with sediments again. The salts of methylmercury are accumulated by water organisms, in particular by water and bottom inhabitants. The methylmercury in the form of metal is liberated from detritus of dead organisms by bacteria [12, 17]. The formation of dimethylmercury arises with the redundancy of a carbonic ion, inorganic nitrogen and high volume of pH, and oxidation of elementary mercury to the ion (II) - in the presence of oxygen and organic matter. Partially elementary mercury is eliminated to the atmosphere by water plants [1, 22]. For want of it, the function of humic acids can consist not only in the delivery of methyl-groups but also in the reservation of the inorganic forms Hg (II).

The processes of dealkylation of methylmercury and its combination with metallothionines prevail in the land animals. Apparently, the bacterial regulation of mercury conversion plays a vital part. It is regulated by the appropriate genes and depends on the concentration of mercury in the medium of organisms. Moreover, the exhalation of elementary mercury by organisms is also bound up with resistance genes (plasmid DNA), which are being formed in bacteria only in extremal conditions [12]. However, these processes are investigated insufficiently.

CONCLUSIONS:

There are the peculiarities of the interaction of mercury with humus substances – fulvo- (FA) and humic acids (HA). It was shown that FA promotes to mercury dispersion in the biosphere in the result of the formation of fulvic complex and abiogenic methylation of mercury with producing toxic Hg-organic compounds. HA, in contrast, has higher sorption volume as to mercury ions and implements the role of sorbents. Kd of mercury in system FA-Hg-HA is falling significantly at competition interaction with increasing concentration of FA and pH of the system. Thus, the humic acid is a regulator of mercury migration in the biosphere. Nevertheless, there is a need to evaluate the competitive interaction of different metals with the active points of humic acid in the presence of mercury and to determine the effect of temperature and solar irradiation on the state of the methylmercury in the laboratory and natural conditions.

REFERENCES:

1. Cosio C., Flück R., Regier N., Slaveykova V.I. Effects of macrophytes on the fate of mercury in aquatic systems. Environ. Toxicol. Chem., 2014. Vol. 33. P. 1225-1237.
2. Danilova V.N., Khushvakhtova S.D., Ermakov V.V. Interaction of mercury with humic acids // Modern problems of soil

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

pollution. M.: MGU, 2010. P. 201-204 (in Russian).
3. Domagalski J. Mercury and methylmercury in water and sediment of the Sacramento River Basin, California// Applied Geochemistry, 2001. Vol. 16. P. 1677–1691.
4. Ermakov V.V. Problems of extremal geochemical ecology and biogeochemical study of the biosphere// Biogeochemistry and Geochemical Ecology. M.: Publ. GUN NPC TMG MZ RF, 2001. P. 98-144.
5. Ermakov V. V. Atomic-absorption method for the determination of mercury in tissues of animals, meat and other foods of animal origin// Methods of veterinary clinical laboratory diagnostics. M.: Kolos, 2004. P. 429-431 (in Russian).
6. Ermakov V.V. Biogenic migration and detoxication of mercury// Mercury in the biosphere. Moscow: Vernadsky Institute, 2010. P. 5-14 (in Russian).
7. Ermakov V.V., Danilova V.N. Bioaccumulation and desintoxication of mercury// Problems of Biogeochemistry and Geochemical Ecology, 2011. No.1 (15). P. 3-16 (in Russian).
8. Ermakov V.V., Letunova S.V., Konova N.I., Alekseeva S.A., Sudnitsina I.G. Geochemical ecology of organisms under conditions of mercury subregion of the biosphere// Proceedings of Biogeochem.Lab., 22. M.: Nauka, 1991. P. 24-68 (in Russian).
9. Ermakov V.V., Usenko S.I. Effect of thiosulphate on metal-accumulation in animal tissues// Proceedings of 3rd Int. Symposium on Trace Elements in Human: New Perspectives. Anhens, Greece, 2001. P. 964-973.
10. Gilmour C.C., Bell T., Bullock A., Graham A., Maizel A., Reidel G., and A.D. Kopec. Distribution and biogeochemical controls on net methyl mercury production in Penobscot River marshes and sediments 2009-2012. Edgewater: Smithsonian Environmental Research Center, 2013. 130 ps.
11. Haitzer M., Aiken G.R., Ryan J.N. Binding of mercury (II) to aquatic humic substances: influence of pH and source of humic substances// Environ. Sci. Technol., 2003. Vol. 37. P. 2436-2441.
12. Khesin R.B., Karasyova E.V. Mercury-resistant plasmids in bacteria from a mercury and antimony deposit area// Mol. and Gen. Genet., 1984. Vol. 197. P. 280-285.
13. Koshle A., Pervez Y,F., Tiwari R.P., Pervez S. Environmental pathway and distribution pattern of total mercury among soil and groundwater matrices around an integrated steel plant in Idia// J. of Scientific and Industrial Res., 2008. Vol. 67. P. 523-530.
14. Liu Y.R., Zheng Y.M., Zhang L.M., He J.Z. Linkage between community diversity of sulfate-reducing microorganisms and methylmercury concentration in paddy soil. Environ. Sci. Pollut. Res. Int., 2014 Vol. 21. P. 1339-1348.
15. Meyer J., Schmidt A., Michalke K., Hensel R. Volatilisation of metals and metalloids by the microbial population of an alluvial soil// Syst. Appl. Microbiol., 2007. Vol. 30. P. 229-238.
16. Morita M., Yoshinaga J., Edmondst J.S. The determination of mercury species in environmental and biological samples// Pure & Appl. Chem., 1998. Vl. 70. No. 8. P. 1585-5.
17. Pongratz R., Heumann K.G. Production of methylated mercury, lead, and cadmium by marine bacteria as a significant natural source for atmospheric heavy metals in polar regions// Chemosphere, 1999. Vol. 39. No. 1. P. 89-102.
18. Rogers R.D. Abiological methylation of mercury in soil// J. Environ. Qual. 1977. Vol. 6. P. 463-467.
19. Scheuhammer A.M., Meyer M.W., Sandheinrich M.B., Murray M.W. Effect of environmental methylmercury on the health of wild birds, mammals, and fish// Ambio, 2007. Vol. 36. No. 1. P. 12-18.
20. Varshall G., Buachidze N. Study co-existing forms of mercury (II) in surface waters. Zh. Anal. Chemistry, 1983. Vol. 38. P. 2155-2167 (in Russian).
21. Woggon H., Klein S., Jehle D., Zydek G. Transformation reactions of special metals in organisms and in the environment. 2. Abiotic methylation reactions of mercury, especially by methyltin compounds and humic and fulvic acids// Nahrung, 1984. Vol. 28. P. 851-862 (in German).
22. Zepp R.G., Baughman G.L., Wolfe N.L., Cline D.M. Methylmercuric complexes in aquatic systems. Environ. Lett., 1974. Vol. 6. P. 117-127.
23. Zhang M.Q., Zhu Y.C., Deng R.W.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Evaluation of mercury emission to the atmosphere from coal combustion, China // Ambio, 2002. Vol. 31. P. 482–484.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

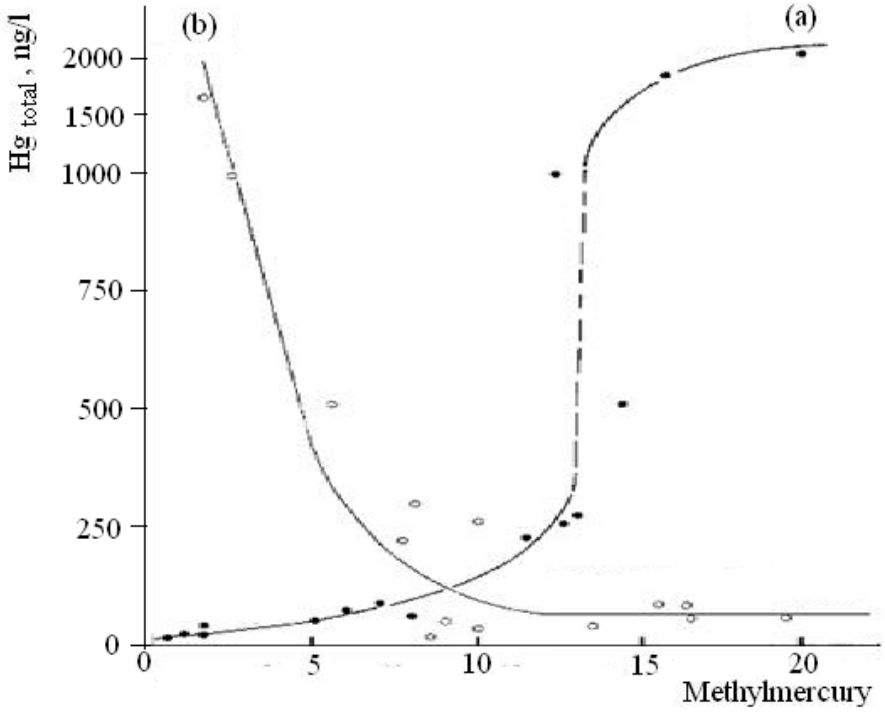


Fig. 1. Dependence of methylmercury concentrations in waters: ng/l (a) or percent from Hg_{total} (b) on total mercury content indices (for the Osh and the Arkhangelsk biospheric subregions).

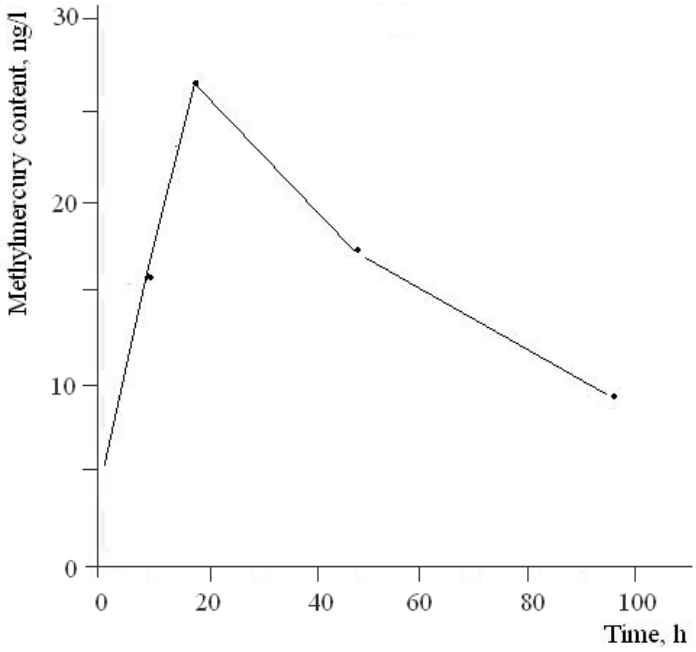


Fig. 2. The contents of methylmercur chloride (MMC) in solution depending on time of incubation (pH-6.4).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

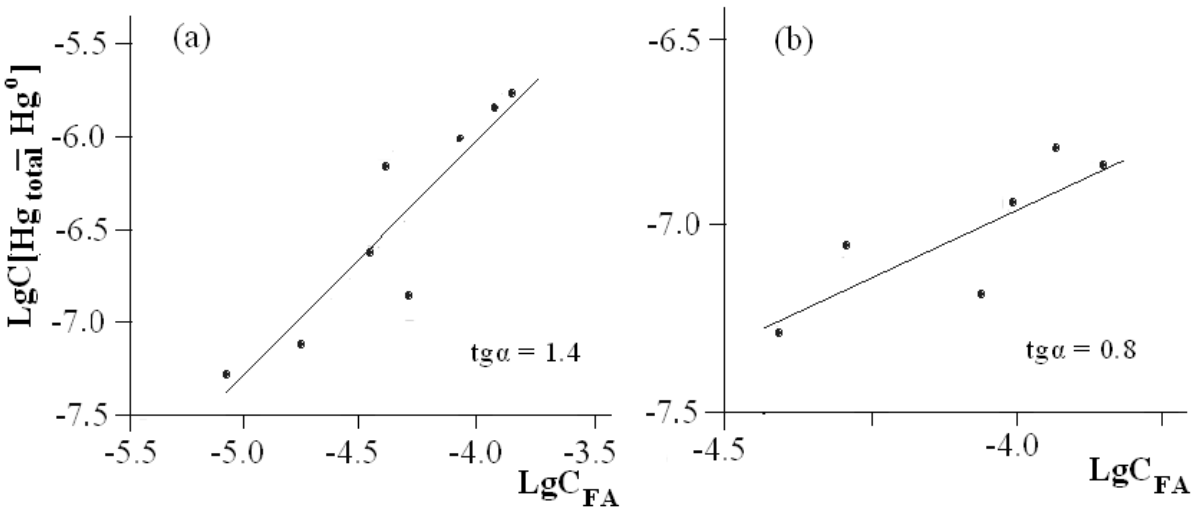


Fig. 3. Dependence of elemental mercury and cinnabar solubility indices on FA concentrations (pH=5.0). (a) system Hg^o – FA, (b) system HgS – FA.

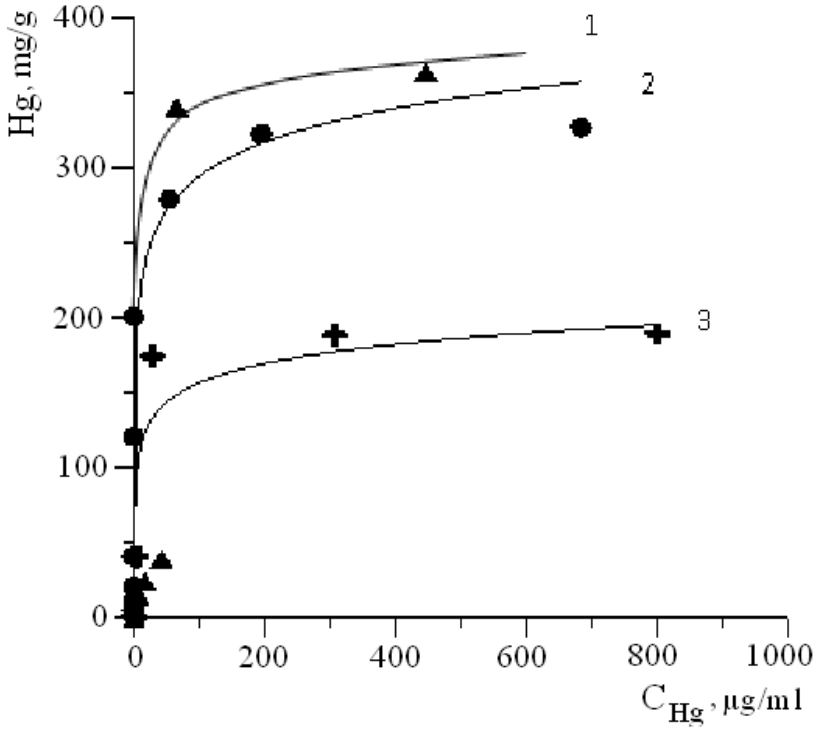


Fig. 4. Mercury sorption isotherms for HA extracted from sapropel (curve 1), turf (curve 2) and marine sediments (curve 3).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

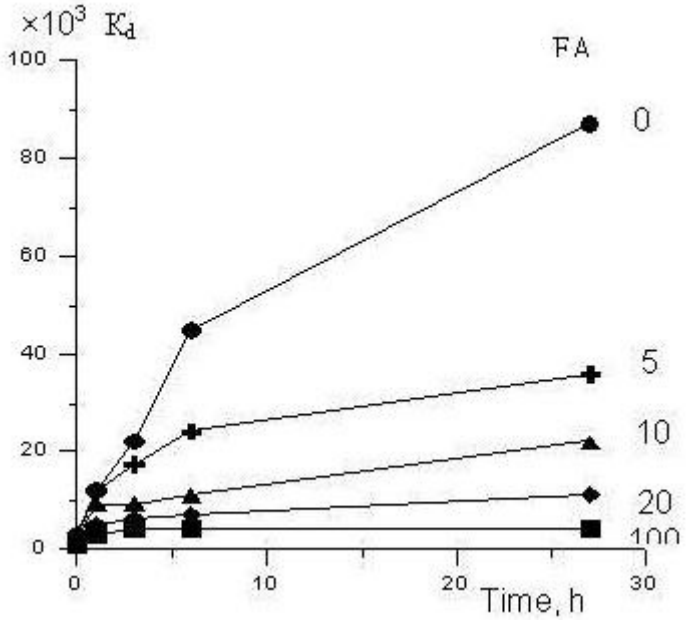


Fig. 5. Dependence of mercury K_d values on time at various FA concentrations in solutions.

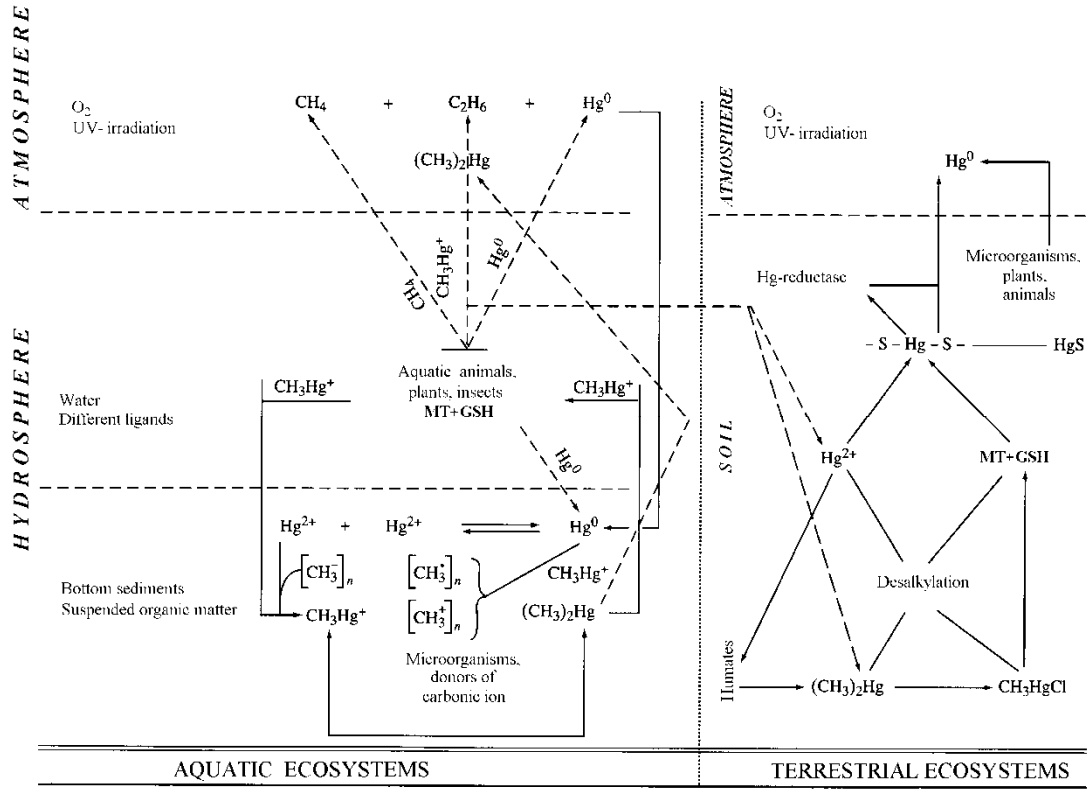


Fig. 6. Transformation of mercury and methyl-mercury in the biosphere. MT – etallothioneines, GSH – reduction glutathione and its derivatives (phytochelatines).

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 1. Conditional stability constants for mercury fulvic complexes of the composition Hg:FA=1:1.

System	pH	Mean β_{11}	lg β_{11}
Hg^0 – FA	5,0	3.60×10^7	7.56
	6,0	1.03×10^{10}	10.01
	7,0	2.32×10^{11}	11,37
Hg^0 – FA	5,0	7.52×10^7	7.88
	7,0	2.99×10^{12}	12.48

Table 2. The experimental K_d values for mercury at pH= 5.0 and 3.0.

Model system	Kd	
	pH= 5.0	pH = 3.0
Fulvates mercury - HA	2×10^1	1.5×10^3
FA – Hg(II) - HA	1.5×10^2	4×10^3
Humat Hg- FA	4×10^4	1×10^4

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

FORMAÇÃO DE COMPETÊNCIAS DE LIDERANÇA DO ENGENHEIRO CIVIL RUSSO MODERNO NO PROCESSO EDUCACIONAL

FORMATION OF LEADERSHIP COMPETENCIES OF MODERN RUSSIAN CIVIL ENGINEER IN THE EDUCATIONAL PROCESS

ФОРМИРОВАНИЕ ЛИДЕРСКИХ КОМПЕТЕНЦИЙ СОВРЕМЕННОГО РОССИЙСКОГО ИНЖЕНЕРА-СТРОИТЕЛЯ В ОБРАЗОВАТЕЛЬНОМ ПРОЦЕССЕ

GUSAROVA, Miroslava S.[1*]; KOPYTOVA, Anna V.[2]; RESHETNIKOVA, Irina G.[3]

[1,2] Tyumen Industrial University, Department of Construction Management and Housing and Communal Services, 38 Volodarskiy Str., zip code 625000, Tyumen – Russian Federation
(phone: +78007005771)

[3] Tyumen Industrial University, Department of Construction, 38 Volodarskiy Str., zip code 625000, Tyumen – Russian Federation
(phone: +73452283660)

** Corresponding author*
e-mail: minnullinaay@yandex.ru

Received 21 November 2018; received in revised form 30 December 2018; accepted 07 January 2019

RESUMO

O artigo apresenta a visão do autor sobre o novo curso de formação "Gestão de Pessoal" para os formadores de mestrado, com o objetivo de formar competências de liderança. É necessário mudar o paradigma de formação de um engenheiro e incluir no processo de formação os temas que visam formar suas competências organizacionais, liderança, responsabilidade de tomar decisões no campo da gestão de equipes. Como parte da nova abordagem de treinamento, propõe-se construir as habilidades de liderança com a ajuda de métodos de ensino ativos: jogos de negócios, equipes de projeto, estudos de caso, treinamento. Baseando-se na experiência de trabalho e desenvolvimento curricular, sabe-se que a principal dificuldade para os compiladores de currículos é uma seleção dos assuntos que ajudarão a implementar essas competências. Por isso, propomos o tema (módulo) "Gestão de pessoas", que tem a base profunda do conhecimento de muitas questões pessoais e é composto por um conjunto de temas interdisciplinares com um conjunto de novas ferramentas de atividades. A condição para a formação de engenheiros civis é aumentar o componente de atividade: aplicação de gerenciamento de projetos, trabalho em pequenos grupos (equipes), iniciativa CDIO, abordagens interdisciplinares, treinamento orientado para a prática.

Palavras-chave: *liderança, equipe de projeto, competências gerenciais, educação em engenharia, formas e tecnologias de trabalho gerencial.*

ABSTRACT

The article presents the author's view on the new training course "Personnel Management" for master-degree builders aimed at forming leadership competencies. It is necessary to change the paradigm of training an engineer and include in the process of the formation such subjects that are aimed at forming his or her organizational competencies, leadership, responsibility for making decisions in the field of team management. As a part of the new training approach, it is proposed to build the leadership skills with the help of active teaching methods: business games, project teams, case studies, training. Basing on work experience and curriculum development, it is known that the main difficulty for compilers of curricula is a selection of those subjects that will help to implement these competencies. Therefore, we propose the subject (module) "Personnel management" that has the deep basis of knowledge of many personal issues and is made up of a set of interdisciplinary themes with a set of new activity tools. The condition for the training of civil engineers is to increase the activity component: application of project management, work in small groups (teams), CDIO initiative, interdisciplinary approaches, practice-oriented training.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Keywords: *leadership, project team, managerial competencies, engineering education, forms and technologies of managerial work.*

АННОТАЦИЯ

В статье представлен авторский взгляд на новый учебный курс «Управление персоналом» для магистров-строителей, направленный на формирование лидерских компетенций. Необходимо изменить парадигму подготовки инженера и включить в процесс формирования такие предметы, которые направлены на формирование его или ее организационных компетенций, лидерства, ответственности за принятие решений в области управления командой. В рамках нового подхода к обучению предлагается развивать лидерские качества с помощью активных методов обучения: деловых игр, проектных команд, тематических исследований, обучения. Основываясь на опыте работы и разработке учебных программ, известно, что основной трудностью для составителей учебных программ является выбор тех предметов, которые помогут реализовать эти компетенции. Поэтому мы предлагаем предмет (модуль) “Управление персоналом”, который имеет глубокие знания многих личных вопросов и состоит из набора междисциплинарных тем с набором новых инструментов деятельности. Условием подготовки инженеров-строителей является увеличение компонента деятельности: применение управления проектами, работа в малых группах (командах), инициатива CDIO, междисциплинарные подходы, практико-ориентированное обучение.

Ключевые слова: *лидерство, проектная команда, управленческие компетенции, инженерное образование, формы и технологии управленческой работы.*

INTRODUCTION

In terms of integration of Russian economy into the world economic space and creation of a modern economy of innovative type, where high-tech branches are breakthrough, the preparation of highly professional engineering personnel is an important and successful component of the transition to a new economy. Therefore, modernization of higher education and transition to professional standards of activities implies the introduction of innovative approaches to the formation of competencies of master's degree graduates of engineering specialties (Froli and Laconne, 2018; Gravit *et al.*, 2018b; Kalinina and Valebnikova, 2018).

As known, a young, competent engineer-builder can quickly move up the career ladder, and become a leader of the lower and middle level already in the age of 25-30 years. Such managers often do not meet important requirements, which leads to frustration in themselves, their work and their competence. Technocratic management style, so common in the Soviet period, has become popular again, although it is absolutely not suitable for all production situations. For effective leadership in a new management environment, in the era of globalization, project management, it is extremely necessary to acquire management skills, situational leadership, teamwork, project management skills (Nagymzhanova, 2013; Amirova *et al.*, 2016; Rogach *et al.*, 2016). However, it is still problematic to obtain such skills at the university due to poor understanding of their need, so today this is possible only by visiting various costly seminars and training (Stritch and Christensen, 2016; Ilin *et al.*, 2016; Larsson *et al.*, 2015).

An important change in the training system was the transition to the training of specialists with a set of necessary competencies set forth in the Federal state educational standard, as well as professional standards. However, despite positive developments, a number of traditional contradictions still operate in the training of engineering personnel, in particular, the principle of interdisciplinarity has not been sufficiently implemented (Rottmann *et al.*, 2015; Itani and Srour, 2015; Hartmann and Jahren, 2015; Kirillov, 2015; Akhmetshin *et al.*, 2018).

Among the scientists who covered this problem, we can distinguish the following: Yu. Poholkov, R. Martínez-López, M. Reznichenko, C. Yot, C. Marcelo, F.T. Shageeva, V.G. Ivanov, A.A. Dulzon and others. All of them are discovering the problems of forming a modern, innovative leader on the basis of an interdisciplinary approach to education. However, this approach is not fully realized in the educational environment (Gravit *et al.,* 2018a; Zotkina *et al.*, 2018; Tepe,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

2016).

In the authors' opinion, the main contradiction is the traditional approach to the formation of educational programs, a functional look at a set of subjects (modules). The world is becoming more dynamic, and the results of the training of civil engineers in the master's degree require that they must be prepared not only for technical issues, but also able to competently conduct a dialogue with resource providers, personnel, clients, be able to build relationships in project teams, be responsible, establish communications, in other words, apply necessary strategies and technologies in field of human resource management (Buley *et al.*, 2016). There is a need for training and development of these skills in training programs for engineers. The socio-humanitarian component of knowledge, which is implemented in a classical manner, is not able to satisfy all the needs of an engineer, since the young specialist needs knowledge of practical (behavioral) instruments of influence on subordinates, knowledge of interpersonal communications, and the ability to see the consequences of their social actions (Kopytova, 2016; Kopytova, 2017; Zotkina *et al.*, 2017; Pykhtin *et al.*, 2017).

The main task of training masters, in authors` opinion, should be a paradigm of quality, rather than the number of subjects in training, as well as the orientation towards modern requirements for the leaders of organizations set out in the Professional Standards. The tasks to be solved during the training are to form a unique, modern, understandable and course based on active forms of training in the field of human management in the context of globalization and internationalization of business; to indicate the need to form this course on the basis of knowledge of human management, based on a more practical basis, rather than the classical disciplines (Vetrova, 2016).

As noted at the session on the project "People-X", which took place on September 10, 2016, in the Russian Presidential Academy of National Economy and Public Administration (RANEPA), "Education should be taught to work with knowledge on practical examples."

METHODS

The benchmark analysis of the best practices of implementing a competence approach in leading technical universities in Russia, as well as some foreign universities and similar comparative analysis in universities implementing training programs for builders, was used as methods for investigating the problem.

The concept of CDIO was adopted as a basis for modernization of engineering education in Russia. It sets the principle of preparing graduates for integrated engineering activities at all stages of the life cycle of products, processes, and systems (Zotkina, 2011; Lezier *et al.*, 2017a; Kazannik, 2012; Lezier *et al.,* 2017b).

In this connection, the training plans for engineers based on the CDIO criteria were studied on the basis of the analysis of university websites and scientific literature in order to identify a list of subjects that include implementation of necessary competencies: General cultural competence (GCC)-2 – willingness to act in unusual situations, carry social and ethical responsibility for decisions;

General professional competence (GPC)-2 – readiness to lead the team in sphere of professional activity, tolerantly perceiving social, ethnic, confessional and cultural differences; GPC-3 – ability to use in practice skills in organization of research and scientific and production work, in the team management, influence the formation of the team's goals, influence the socio-psychological climate in the direction necessary to achieve the goals, assess the quality of activity results, ability to active social mobility.

Review of modern educational practices, based on a study of experience in solving similar problems in engineering master programs of Russian and foreign universities according to the websites of universities and other publications, showed the following (Table 1). Analysis of foreign experience shows that advanced and some developing countries have already created (create) conditions for full implementation of CDIO initiative. There are necessary subjects and modules in the curricula (Makushkin, 2016).

Analysis of Russian practice of implementing Master's programs in the direction of "Civil Engineering" (more than 60) in 8 national research technical universities and four civil engineering universities showed that most often subjects of humanitarian profile are aimed at formation of above-mentioned competencies, for example, "Basics of Pedagogy and Andragogy" are realized in 50 programs, on the second place

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

are "Psychology and ethics of business communication", "Social, psychological, legal communications", "Basics of scientific research", "Basics of professional activity ", as well as pedagogical practice (the practice of obtaining primary skills and competencies), the state final attestation. Less common are "Philosophical Problems of Science and Technology", "Organization of Planning and Construction Management", "Quality Management", "Methods for Solving Scientific and Technical Problems in Construction", etc., where obtaining the above-defined skills is not always the subject of this discipline.

It can be said that universities, implementing modern principles of education, go from the possible, not focusing on the development of more adequate disciplines, modules. And only in one program "Value Engineering" of the Don State Technical University, there is the subject "Human Resource Management", which in its name and content is the closest to the formation of the above competencies.

RESULTS AND DISCUSSION:

At the Tyumen Industrial University, methodical approach to the development of assigned by FSES competencies was formed thanks to the successfully implemented for more than 10 years higher education program "Human Resource Management". Therefore, the subject "Personnel Management" in the second semester as a basic discipline of cycle B1 in all master's programs is taught on the basis of the high quality of training, experience in teaching subjects of managerial nature. In addition, other subjects and practices are directed to the formation of competencies, which can be seen in Table 2.

In the subject "Human Resource Management", all the required competencies are implemented at a high level in the format of modern pedagogical technologies containing practice-oriented training. This is a complex interdisciplinary, quite labor-intensive course, which includes the following structure (Table 3, on the example of master program "Management of the construction organization" of the direction 08.04.01 Civil Engineering, in the context of obtained competencies).

All the topics of lectures are supported by practical classes, which are implemented in the format of business games, training, case studies. The method of teaching is based on the principles of HR-engineering and project management. HR-engineering is the methodology of system organization of human resources management, integrating human, corporate architecture and information technology. The methodological basis of HR-engineering is the system approach (basic methodology), business-engineering and socio-psychological approaches.

As a result of work on the course and an attempt to make it meaningful and useful, authors have formed such a list of topics that are maximally focused on the work of the leader in the team. It is obvious that nowadays only leading universities of the country (national research technical universities) are set for the training of new engineers-leaders: curricula have all the necessary modules and subjects for the formation of managerial competencies.

The analysis of curriculum of civil engineers showed that almost all specialized universities lag behind the leading ones in the formation of actual educational programs for the training of engineers, and most curricula do not include subjects aimed at developing managerial competencies. Despite the existing training and seminars, which are now very popular, it is important for a young specialist to gain primary skills in personnel management in the university, in the familiar environment, and to work with the team, having already acquired necessary knowledge and skills.

Due to the preservation of tradition in training of civil engineers, it is very difficult to find a master's program in which approach to the formation of managerial competencies has been competently implemented. The main choice of compilers of curricula for civil engineers falls on the subject "Fundamentals of Pedagogy and Andragogy", as well as "Psychology and Ethics of Business Communication", "Social, Psychological, Legal Communications", "Fundamentals of Scientific Research". For example, according to the site of the Moscow State University of Civil Engineering in the curriculum "Fundamentals of Pedagogy and Andragogy" for students of the direction 08.04.01 "Civil Engineering" there are sections "Pedagogy as theory and practice", "Teaching and methodical work of the teacher of higher education School". Apparently, the main emphasis in the program is on the formation of methodological competences of the civil

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

engineers for work in the education system. There is a traditional approach to teaching, following the old approaches to the formation of curricula based on didactics. Nevertheless, it wasn`t found a connection between the subject of lectures and the competencies indicated in the curriculum.

However, in order not to violate the established approach, but to approach formation of leadership skills of engineers in an expanded format and make them relevant, some universities offer a proposal in the form of additional professional education programs. For example, an extensive list of such programs was announced on the website of the St. Petersburg Polytechnic University. There were developed and presented additional educational programs "Head of the construction organization" and others to receive economic and managerial competencies, including Module 10 "Personnel Management" in the program "Industrial and Civil Construction", Module 2. Management of the project team in the program "Economics and Organization of Construction", Module 9 "Business Communications and Personnel Management "In the program "Head of the construction organization." In our opinion, the content of the federal educational standard is missed, and the formation of relevant competencies is being offered by the university on a commercial basis, not only to practitioners but also to students. In this university in the master's program for the formation of these competencies, the disciplines "Teamwork and business communications", "Project management" are offered.

The subject "Psychology and ethics of business communication" also does not cope with the formation of leadership competencies, since, it often presents to the students more tools for interaction in isolation from the practice of their application in a professional environment. On the basis of the conducted research, it becomes obvious that our system of training of civil engineers is still far from penetrating into it the principle of interdisciplinarity and team approach, which is incorporated in authors` training course.

CONCLUSIONS:

A solution of the task of preparing a modern civil engineer is now in front of all technical and civil engineering universities. For authors of this article, it is important to develop and implement a training discipline that covers the full range of managerial competencies. Therefore, the discipline "Personnel management" with necessary competencies is taken as a basis. The course is aimed at the formation of practical skills of construction engineer in the team so that he can be an active leader of any team: from the master to the head of the construction site, from the head of the project team to the chief engineer of the project.

Proposed discipline "Personnel management" is a kind of "response" to the request for practice in the formation of a modern leader in the knowledge economy. It differs from many disciplines because it includes the development of not only communication skills but also teamwork. Undoubtedly, this is a necessary cross-section of competencies in the horizontal direction but also aims at developing leadership skills – team management, distribution of functions, management of the cross-cultural environment, which makes the study of discipline voluminous, and covers vertical development of leadership.

ACKNOWLEDGMENTS:

The research was performed in the framework of the project Smart-City, IoT/IIoT, and Big Data.

REFERENCES:

1. Akhmetshin, E.M., Brager, D.K., Pokramovich, O.V., Andreyko, M.N., Aleynikova, M.Yu. Modern theoretical and methodological approaches to personnel management in manufacturing enterprises. *Espacios*, **2018**, *39(31)*, 11.
2. Amirova, A., Nagymzhanova, K., Menslu, D., Jazdykbayeva, M., Dauletova, A. *Social Sciences (Pakistan)*, **2016**, 11(5), 735-746.
3. Buley, N.V., Demchenko, T.S., Makushkin, S.A., Vinichenko, M.V., Melnichuk, A.V. Human resource management in the context of the global economic crisis. *International Journal of Economics and Financial Issues*, **2016**, 6(S8), 160-165.
4. Froli, M., Laccone, F. *Journal of Architectural Engineering*, **2018**, *24(1)*, 04017030.
5. Gravit, M., Golub, E., Antonov, S. *Magazine of Civil Engineering*, **2018b**, *3*, 86-94.
6. Gravit, M., Zybina, O., Vaititckii, A., Kopytova, A. *Advances in Intelligent Systems and*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Computing, **2018a**, *692*, 1093-1101.
7. Hartmann, B.L., Jahren, C.T. *Journal of STEM Education: Innovations and Research*, **2015**, *16(3)*, 13.
8. Ilin, I.V., Kalinina, O., Iliashenko, O., Levina, A. Procedia Engineering, **2016**, *165*, 1673-1682.
9. Itani, M., Srour, I. *Journal of Professional Issues in Engineering Education and Practice*, **2015**, 04015005.
10. Kalinina, O., Valebnikova, O. *Advances in Intelligent Systems and Computing*, **2018**, *692*, 1315-1322.
11. Kazannik, A.I., *Bulletin of Omsk University,* **2012**, *33(4)*, 35-43.
12. Kirillov, A.V. Technologies of personnel development in modern social management. *Materials of the Afanasiev Readings*, **2015**, *1(13)*, 31-38.
13. Kopytova, A. MATEC *Web of Conferences*, **2017**, *106*, 08056.
14. Kopytova, A. *Procedia Engineering*, **2016**, *165*, 1132.
15. Larsson, J., Eriksson, P.E., Olofsson, Th., Simonsson, P. *Journal of Management in Engineering*, **2015**, *31(6)*, 04015011.
16. Lezier, V., Gusarova, M., Kopytova, A. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, **2017a**, *90(1)*, 012034.
17. Lezier, V., Gusarova, M., Kopytova, A. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, **2017b**, *90(1)*, 012069.
18. Makushkin, S.A. Evaluation system of quality of electronic educational publications and resources used in educational process organization. *Materials of the Afanasiev Readings*, **2016**, *1(14)*, 209-214.
19. Nagymzhanova, K. *Life Science Journal*, **2013**, *10(12)*, 439-443.
20. Pykhtin, K., Simankina, T., Sharmanov, V., Kopytova, A. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, **2017**, *90(1)*, 012065.
21. Rogach, O.V., Frolova, E.V., Kirillov, A.V., Bondaletov, V.V., Vinichenko, M.V. Development of favourable learnıng envıronment and labor protectıon ın the context of harmonızatıon of socıal interactıon of educatıonal system objects. *International Electronic Journal of Mathematics Education*, **2016**, *11(7)*, 2547-2558.
22. Rottmann, C., Sacks, R., Reeve, D. *Leadership*, **2015**, *11(3)*, 351-373.
23. Stritch, J.M., Christensen, R.K. *International Journal of Manpower*, **2016**, *37-5*, 840-858.
24. Tepe, M. *Public Management Review*, **2016**, *18-4*, 508-538.
25. Vetrova, E.A. Social entrepreneurship as a factor in the development of human capital. *Materials of the Afanasiev Readings*, **2016**, *3(16)*, 79-83.
26. Zotkina, N. *Finances and Credit*, **2011**, *48(480)*, 21-28.
27. Zotkina, N., Bardasov, S., Gusarova, M., Kopytova, A. MATEC *Web of Conferences*, **2017**, *106*, 08050.
28. Zotkina, N., Gusarova, M., Kopytova, A. *Advances in Intelligent Systems and Computing*, **2018**, *692*, 1204-1213.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 1. *Analysis of the best educational practices*

University/education standard	Practice	Main trends
Foreign experience		
International standards CDIO – (Conceive, Design, Implement, Operate).	MIT (Massachusetts Institute of Technology).The basis for modernization of engineering education in accordance with the concept of CDIO is the preparation of graduates to integrated engineering activities at all stages of life cycle of products, processes, and systems.	The standards provide for the systematic training of engineers who can generate ideas, design, produce, operate and dispose of engineering products – perform all 4 stages of engineer training. Managerial competencies are provided in the second stage Syllabus: 2. Professional and personal qualities: 2.5. Ethics, justice and other kinds of responsibility. 3. Universal competencies: teamwork and communication. 3.1. Teamwork. 3.2. Communications.
RMUTT Rajamangala University of Technology Thanyaburi	The program of industrial engineering – beginning of implementation in 2015.	It places emphasis on the formation and development of work skills in the project team communication, personal skills. The subject "Human Resource Management" is taught in the second semester of the 1st year
Singapore Polytechnic	Adapted secondary vocational education programs have been developed, based on the planned results of CDIO training	The list of knowledge and skills, apart from the fundamental ones, includes additional competencies: ability to solve problems, ability to manage human resources, ability to work in team and build communication, and ability to rely on professional ethics and values in work activity
University of Debrecen, Hungary	Solving the problem of "low level of professional and universal skills of graduates of engineering specialties"	Humanities and economics account for 16% of the labor intensity, various interdisciplinary programs are being created
Russian National Universities		
National Research University "Tomsk Polytechnic University"	In 2012, a new version of "Standards and guidelines for quality assurance of the main educational programs for the training of bachelors, masters, and specialists in the priority areas of development of the National Research Polytechnic University of Tomsk" was put in place	Basing on the low results of assessing leadership in engineering activities by employers, an additional supplement to the basic vocational education program was developed, alongside the program "Elite Technical Education", which includes the module "Innovative Leadership"
Siberian Federal University	Development of training technology and formation of professional competencies as a result of training in educational programs of the project "Special engineering education" using network interaction	In the curriculum in the subject "Basics of projecting" the module "Project Management" is proposed, within which framework the subject "Organization and Personnel Management" is implemented, and also the subject "Leadership Program" offers the topic "Leader and Teamwork (Trainings)"
Kazan National Research Technological	Training of personnel for the "economy of new knowledge"	The main emphasis is on the development of leadership qualities,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

University (KNRTU)		development of individual intellectual resources in the implementation of the psychological module
Northern (Arctic) Federal University named after MV Lomonosov.	Modernization program of engineering training areas based on international standards CDIO	Strategic planning, scientific research practice, industrial and technological practice, organizational and administrative practice
Russian State University of Oil and Gas named after IM Gubkin	Implementation of the principle of interdisciplinarity in the system of innovative projects of the XXI century University on the development of competencies of young specialists and industry workers	The project "Virtual environment of professional activity as a learning environment" is of the greatest interest, as well as joint virtual training for students in various training areas. The disadvantage is methodical complexity in preparation of cases
St. Petersburg Mining University	Subjects and Practices: Fundamentals of pedagogy and andragogy Research Practice Pedagogics Project and technological practice State final attestation	The programs are based on traditions of the didactic approach, separate topics of courses (practical programs) include study or testing of presented competences. An integral system for formation of managerial competencies doesn't exist
St. Petersburg Polytechnic University	Subjects and Practices The subject "Teamwork and business communications", as well as additional educational programs "Head of the construction organization" and so on for obtaining economic and managerial competencies	Module No. 10 "Personnel management" Module 2. Management of the project team in the program "Economics and Organization of Construction" Module 9 "Business Communications and Personnel Management" in the program "Head of Construction Organization"
Irkutsk National Research Technical University Direction 08.04.01 "Construction"	Subjects and Practices: Fundamentals of pedagogy and andragogy Psychology and ethics of business communication All types of practices and state final certification	The programs are based on traditions of the didactic approach, separate topics of courses (practical programs) include study or testing of presented competences. An integral system for formation of managerial competencies doesn't exist
Mordovian State University named after Ogaryov	Subjects and Practices: Philosophical problems of science and technology Social, psychological, legal communication Basics of professional activity Educational practice (practice for obtaining primary professional skills and pedagogical skills) State final attestation	The programs are based on traditions of the didactic approach, separate topics of courses (practical programs) include study or testing of presented competences. An integral system for formation of managerial competencies doesn't exist
Universities of Civil Engineering (according to site monitoring)		
Moscow State University of Civil Engineering	Subjects and Practices: Philosophical problems of science and technology Social, psychological, legal communication Basics of professional activity Educational practice (practice for obtaining primary professional skills and pedagogical skills)	The programs are based on traditions of the didactic approach, separate topics of courses (practical programs) include study or testing of presented competences. An integral system for formation of managerial competencies doesn't exist

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

	State final attestation	
St. Petersburg University of Architecture and Civil Engineering	Subjects and Practices: Organization of planning and management of construction of transport facilities Pedagogical practice Fundamentals of pedagogy and andragogy Production practice Research Practice	The programs are based on traditions of the didactic approach, separate topics of courses (practical programs) include study or testing of presented competences. An integral system for formation of managerial competencies doesn't exist
Novosibirsk University of Architecture and Civil Engineering	Subject: Fundamentals of pedagogy and andragogy	The analysis of curriculum of the subject showed a traditional set of topics, which does not reveal the possibility to realize the full range of necessary skills
Rostov University of Architecture and Civil Engineering	Subjects and Practices: Basics of pedagogy and andragogy Quality management of road products Basics of management in the road sector The methodology of scientific research, Math modeling Methods of solving scientific and technical problems in civil engineering Quality management of road products New composite road-building materials, Research Practice The practice of obtaining professional skills Pre-diploma practice, State final attestation	The programs are based on traditions of the didactic approach, separate topics of courses (practical programs) include study or testing of presented competences. An integral system for formation of managerial competencies doesn't exist. There are quite "exotic" subjects from the point of view of management science

Table 2. *The content of training in management competencies in the "Tyumen Industrial University"*

Tyumen Industrial University		
General competence -2, General professional competence -2, General professional competence -3	Subjects and Practices: Psychology and Ethics of Professional Activities Personnel Management Research Practice The practice of obtaining professional skills Pre-diploma practice, State final attestation	In general, programs are based on traditions of the didactic approach, separate topics of the courses (practical programs) include study or testing of competences presented, an integral system of forming managerial competencies is formed thanks to inclusion of a larger proportion of management disciplines in individual programs, including personnel, organization, and project management.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 3. *Design of the discipline "Human Resource Management"*

Competencies	Topics of lectures
GC-2 – a willingness to act in unusual situations, bear the social and ethical responsibility for decisions	Introduction to the theory of HR-engineering
	Forms and technologies of managerial activity of the leader. Motivation and performance evaluation.
GPC-2 – readiness to lead the team in the sphere of professional activity, tolerantly perceiving social, ethnic, confessional and cultural differences	Organizational culture as a managerial resource of the leader
	Forms and technologies of managerial activity of the leader. Motivation and performance evaluation
	Team leadership basics
	Basics of professional communication
	Engineering of manager's personal work. Basics of Time Management
GPC-3 – ability to use in practical skills in organization of research and scientific and production work, in the team management, influence the formation of team's goals, influence the socio-psychological climate in the direction necessary to achieve the goals, assess the quality of activity results, ability to active social mobility	Introduction to the theory of HR-engineering
	Team leadership basics
	Forms and technologies of managerial activity of the leader. Motivation and performance evaluation
	Designing professional teams
	Basics of professional communication

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

JOGO COMO UMA FERRAMENTA DE CONTROLE INTERMEDIÁRIO DO CONHECIMENTO DOS ALUNOS

GAME AS A TOOL OF MIDTERM CONTROL OF STUDENTS' KNOWLEDGE

ИГРА КАК СРЕДСТВО ПРОМЕЖУТОЧНОГО КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ СТУДЕНТОВ

MINNULLINA, Anna Yu.[1*]; KOPYTOVA, Anna V.[2]

[1,2] Tyumen Industrial University, Department of Construction Management and Housing and Communal Services, 56 Volodarskiy Str., zip code 625000, Tyumen – Russian Federation
(phone: +79129277072)

** Corresponding author*
e-mail: minnullinaay@yandex.ru

Received 12 November 2018; received in revised form 30 November 2018; accepted 07 January 2019

RESUMO

O foco na aprendizagem ativa tornou-se um dos componentes significativos da estratégia para a reestruturação do ensino profissional nas instituições de ensino superior. Portanto, o objetivo principal do trabalho é baseado na análise de testes como um dos métodos efetivos de aprendizagem ativa. Os autores desenvolveram um teste eletrônico na forma de um jogo, que contribuiu para a avaliação do conhecimento dos alunos na disciplina de "*Marketing*". A base do teste eletrônico foi o famoso *quiz*. O artigo descreve em detalhes o algoritmo de teste na forma de um jogo; revelou, durante os testes, as vantagens e desvantagens, bem como a opinião dos alunos sobre o teste de conhecimento baseado no jogo. Estabeleceu-se que a versão de teste sob teste em forma de jogo mostrou vantagens significativas no curso dos testes em comparação com as formas tradicionais de controle de conhecimento a médio prazo e encontrou revisões positivas tanto entre professores como estudantes.

Palavras-chave: *métodos de ensino ativos; teste eletrônico; marketing; métodos de ensino; teste; verificando o conhecimento dos alunos.*

ABSTRACT

The focus on active learning has become one of the significant components of the strategy for the restructuring of vocational education in higher educational institutions. Therefore, the main objective of the work is based on the analysis of testing as one of the effective methods of active learning. The authors developed an electronic test in the form of a game, which contributed to the assessment of students' knowledge in the discipline of "Marketing". The basis of the electronic test was the famous quiz. The article describes in detail the testing algorithm in the form of a game; it has revealed, during its testing, the advantages, and disadvantages, as well as the students' opinion on the testing of knowledge based on the game. It was established that the test version under test in a game form showed significant advantages in the course of testing in comparison with traditional forms of knowledge control in the medium term and found positive reviews both among teachers and students.

Keywords: *active teaching methods; electronic testing; marketing; teaching methods; testing; checking knowledge of students.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

АННОТАЦИЯ

Ориентация на активное обучение стала одним из значимых компонентов стратегии перестройки профессионального образования в высших учебных заведениях. Поэтому основная цель работы основана на анализе тестирования как одного из эффективных методов активного обучения. Авторами разработан электронный тест в игровой форме, который способствовал оценки знания студентов по дисциплине «Маркетинг». Основой электронного теста стала известная викторина. В статье подробно описан алгоритм тестирования в игровой форме, выявлены, в ходе его апробации, преимущества и недостатки, а также мнение студентов относительно тестирования знаний на основе игры. Установлено, что исследуемый вариант тестирования в игровой форме показал значительные преимущества в ходе апробации в сравнении с традиционными формами контроля знаний в среднесрочной перспективе и нашел положительные отзывы как среди преподавателей, так и среди студентов.

Ключевые слова: *активные методы обучения; электронное тестирование; маркетинг; методы обучения; тестирование; проверка знаний студентов.*

INTRODUCTION

There are significant changes in the modernization of Russian education in general and higher education, in particular nowadays. Russia's desire to participate in the Bologna Process and activities related to this has exacerbated the problem of ensuring the quality of higher education, which is the main condition for training specialists for the development of common European space (Zotkina *et al.*, 2017a; Pykhtin *et al.*, 2017).

The creation of a system for ensuring the quality of education in a university is realized through the national project of state support of universities that implement innovative educational programs (Mitrofanova, 2014; Zotkina *et al.*, 2017b; Minnullina, 2017). It is based on the replacement of the educational paradigm, which in science is understood as the initial conceptual model of posing problems and their solutions through certain means and methods. The new educational paradigm is oriented towards the introduction of a competence approach in teaching, which is aimed at forming the specialist's ability to independently apply in a certain context the knowledge and skills obtained in the course of training (Nagymzhanova, 2013; Amirova *et al.*, 2016; Froli and Laccone, 2018). Thus, one of the main principles laid down in the mock-up of the Federal State Educational Standard of Higher Professional Education in the field of training is the establishment of requirements for the results of mastering the basic educational programs for bachelor's training in the form of competencies (the systematization of competencies is similar to that adopted in the European project TUNING) (Stritch and Christensen, 2016). Therefore, the implementation of the competence approach involves the definition of the structure of competencies that must be acquired and demonstrated after completion by the students of learning as its result (Gravit *et al.*, 2018).

Traditional forms of examining the knowledge in the educational system of Russia are focused primarily on assessing the quality of knowledge and skills acquired by the student as a result of mastering specific disciplines and practices. They can still be successfully applied mainly for the midterm control and intermediate certification; however, when using them, emphasis should be placed on how the acquired knowledge and skills are built into the integrative system of competences being formed (Lamminpiya *et al.*, 2015a; Lamminpiya *et al.*, 2015b).

Control in the narrow sense can be considered as the study of the state of the process at a given moment and its comparison with the planned or normative. Depending on the purpose and content of the assessment carried out, the notion of feedback is used in the meaning of control. In the broadest sense, the notion of "control" is interpreted as an assessment of the state of the process in accordance with regulatory characteristics and development of recommendations for the future, help to the student (Zotkina *et al.*, 2018).

In different sources of literature and in practice there are used different concepts, such as "control", "accounting", "survey", "knowledge verification". These concepts are interrelated, they enrich and complement each other, but each of these concepts has its own specific features

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

(Lezier *et al*., 2017).

Knowledge testing is a structural component of control, ensuring external feedback and internal communication of participants in pedagogical interaction; it is aimed at identifying, changing the quality, level, and volume of mastering the educational material by the students and the degree to which the learning objectives are achieved (Mottaeva and Minnullina, 2017; Gravit *et al*., 2017). The control is not always accompanied by a mandatory mark. Nevertheless, the concepts of "control" and "verification" are very often identified.

According to Galkina E.A the term "accounting of knowledge and skills" does not adequately reflect the essence of those phenomena that it is called upon to designate in pedagogy. Accounting the academic progress means taking into account, fixing, filling and storing information about the results of checking the knowledge of students on the assimilation of the relevant educational material. In other words, the quantitative calculation is the determining sign in the content of the concept of "accounting," but the qualitative aspect of mastering knowledge is also important in evaluating the results.

Thus, knowledge control implies the unity of all its components (verification, evaluation, and accounting) and is defined as the process of identifying and measuring the learning of students, their quality, and the process of correcting errors in the content, speech, logic of the answer, leading to the correction of learning outcomes (Yeo, 2016; Gusarova and Kopytova, 2014; Zotkina and Kopytova, 2014).

Assessment of the quality of mastering the basic professional educational program should include midterm evaluation of academic performance of students and final state certification of graduates. At the same time, midterm monitoring allows identifying and timely eliminating gaps in the student's knowledge, as well as creating an additional motivation for studying the training material throughout the semester (Tepe, 2016).

In the process of choosing the forms and methods of midterm knowledge control, it is important to take into account the type of attestation and the nature of the expected result, which in many respects determines the choice of one or another measurement method. To assess the learning outcomes, oral, written, computer (information technology) forms of monitoring can be used (Zotkina, 2011; Lezier *et al*., 2017). The main forms of oral and written monitoring include web-quest, report, colloquium, test work, course project, report, abstract, interview, testing, oral interview, essay, etc. The technical and innovative forms of monitoring include electronic workshop, business or role game, project, simulation game, computer testing programs, brainstorming, situational test, simulators, etc.

MATERIALS AND METHODS

Analyzing the advantages and disadvantages of traditional forms of monitoring, the authors proposed electronic testing in a game form for the midterm monitoring of students' knowledge, which was tested in the discipline "Marketing". The use of testing contributes to the assessment of the available knowledge and skills of students, and its implementation in electronic form makes it possible to automate the process of identifying the results of evaluating the knowledge of students in the form of evaluation mark (Minnullina and Abdrazakov, 2017). So, the main advantages of electronic testing in the form of games are:

– saving the teacher's time (the time spent is 2-3 times less than by oral control);

– the ability to put all students in the same conditions;

– the possibility of developing equivalent in difficulty possible answers for the questions;

– the possibility of accumulating and storing an electronic database (Kopytova, 2016);

– the ability to objectively evaluate responses when the instructor's assistance is not available;

– the ability to verify the validity of the mark given to the student;

– the reduction of the subjective approach to the assessment of the student's preparation, conditioned by his individual characteristics.

For the development of electronic testing, the authors have chosen as the basis the famous English quiz "Who Wants to Be a Millionaire?", Which is on the air of various television companies around the world. The creator of the quiz is Celador. Currently, more than 100 countries are licensed to produce the game. In Russia, the game is presented on the First Channel under the title "Who Wants to Be a

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Millionaire?"

RESULTS AND DISCUSSION:

The content of electronic testing is determined by the conditions of the quiz show, as well as by the course of lectures and material of the practical classes of the discipline "Marketing". Based on the name of the show and the discipline being studied, testing has the name - "Who wants to become a marketer?" In our opinion, the well-known name of the game show will attract the attention of students to electronic testing and will involve them in the process of midterm assessment of knowledge with minimal psychological stress (Minnullina and Abdrazakov, 2018; Kazannik, 2012).

When determining the structure of electronic testing in a game form, the following restrictions were formulated:

1) testing is carried out using a computer to automate the process;

2) the number of control questions should be within 12;

3) all the questions should be based on the material of one discipline;

4) the result of passing the game should be displayed on the screen in the form of points corresponding to the results of the assessment of knowledge;

5) the result of testing should be blocked (with the unlock password for the teacher) to prevent the student from re-passing the test.

When conducting electronic testing in a game form, the teacher takes the role of the game coordinator, and students play the role of players. The sequence of passing the electronic testing by the student (hereinafter referred to as the player) assumes the following stages:

1. Selection stage. This stage is necessary to ensure that there is a minimum level of knowledge of the course of discipline. For this, three questions are formed, based on the conceptual apparatus of discipline. It is necessary to give the right answer to the question posed to determine the competence of the player and to gain access to the game.

2. The main stage. In order to "earn 1 million rubles" and "become a millionaire", namely, to receive a positive assessment of knowledge of a certain level, the student who has passed the qualifying round must answer 10 questions on the discipline in question. Each subsequent question differs from the previous one in complexity. The first questions touch the theoretical foundations of the discipline under study, which will not be difficult to answer, and subsequent questions require knowledge in certain areas of the course, suggesting an independent deeper study of these directions by students. With the increase in the level of complexity of the questions, the amount of the prize, which is measured in points from 50 to 100, is consistently growing.

The level of points is determined by the adopted special scale with the following limits:

1) Having less than 59 points means that the level of knowledge is "unsatisfactory". The student did not master the theoretical content of the course;

2) 60-73 points mean that the level of knowledge is "satisfactory". The student partially learned the theoretical content of the course. However, errors and gaps in knowledge are noted;

3) 74-84 points mean that the level of knowledge is "good". The student has fully mastered the theoretical content of the course, and there are no gaps in the basic concepts. However, it has been noted that some practical skills have not been sufficiently developed;

4) 85-100 points mean that the level of knowledge is "excellent". The student has fully mastered the theoretical content of the course and the material allocated for independent study, and also has formed practical skills according to the course.

3. The final stage. At the end of the test, the player receives an effective evaluation of the acquired knowledge in the form of scores. Also, after the first error, testing ends, and a meaningful assessment of knowledge is output accompanied by a conclusion and suggestions for fixing the material, if necessary.

The player within the framework of electronic testing has the right to use three tips:

1) "50/50". Two variants of the answer out of four are excluded, which simplifies the choice for the player;

2) "Call a friend". It gives an opportunity to learn from a classmate pre-determined by the player correct answer to the question posed. In

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

this case, a limited time of 30 seconds is allocated, which is counted by the system;

3) "Help of the audience". It is realized as voting of an artificially formed audience for each variant of the answer to the question posed. The computer displays the result of the statistical probability of the correct answer.

The algorithm of the electronic testing process is shown in Figure 1. Such a scenario of electronic testing allows you to check the received knowledge in an interactive form during the lecture, practical classes, as well as in the course of independent work. At the same time, students acquire skills in structuring the problem, reasoning, finding the rational solution, and the right answers in game conditions (Kopytova, 2015; Liu and Perry, 2016).

At the heart of the game and, accordingly, the electronic testing are such methods of teaching as testing; method of brainstorming; final examination. Electronic testing can be implemented both on the basis of Microsoft PowerPoint presentation software with an automatic slideshow, and on more complex platforms. The successful conduction of the midterm knowledge control in the form of electronic tests is determined by the fulfillment of the following conditions:

1) each student must have a workplace with a computer;

2) the total time allotted for acquaintance with the conditions and the conduct of the game makes 1 academic hour;

3) the conduct of the game must be controlled by the teacher in the audience;

4) the questions should be divided into groups by the degree of complexity;

5) Within each group, questions should be changed in a random order to exclude cheating between students.

When using electronic tests, an important factor is a feedback, the main options of which can be a quantitative assessment of the right answers, demonstration of the correct answer to the student, and presentation of a report on the correctness of the answers (Kopytova, 2017).

CONCLUSIONS:

To identify the possibility of testing the knowledge and skills of students using electronic testing, an approbation was carried out on the example of the discipline "Marketing" in the format of the game "Who wants to become a marketer?". Electronic testing has been tested among bachelors in the field of "Trade Business", "Production Management", as well as among students of other economic specialties studying the discipline "Marketing" and "Fundamentals of Marketing" in the educational process. During the approbation of electronic testing, the opinion of 85 students and recommendations for its improvement were identified (Table 1).

Based on the results of approbation, the following advantages of conducting midterm knowledge control in the form of electronic testing are revealed:

1) an increase of interest in the educational material of the discipline due to the attractiveness of modern execution;

2) simultaneous testing of knowledge of all students in the group;

3) the minimum amount of time to conduct a knowledge test and identify the results by automating the process;

4) the applicability to the evaluation of knowledge of both midterm and intermediate examination of students;

5) the ability to adapt to most courses of disciplines.

Despite the wide possibilities of using electronic testing in the game form for midterm monitoring of students' knowledge, during the approbation the following difficulties were revealed:

1) the availability to have a positive result in the absence of sufficient knowledge of by randomly selecting the answers during the game;

2) the need for a laboratory equipped with computers;

3) the lack of the possibility to use the game for groups with a large number of students due to the limited provision with the necessary equipment for students.

Despite the revealed shortcomings, the electronic testing in a game form showed significant advantages in the course of approbation as opposed to traditional forms of midterm knowledge control, found positive responses both among teachers and students. It should be noted that it is quite difficult to attract

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

students' attention to the midterm knowledge control in the traditional form due to the experienced discomfort and psychological stress. The developed electronic testing can be one of the options for eliminating the above-mentioned shortcomings and involving students in the learning process with positive feedback.

ACKNOWLEDGEMENTS:

The study was carried out within the framework of the Smart-City project, IoT/IIoT and Big Data.

REFERENCES:

1. Amirova, A., Nagymzhanova, K., Menslu, D., Jazdykbayeva, M., Dauletova, A. *Social Sciences (Pakistan)*, **2016**, *11(5)*, 735-746.
2. Froli, M., Laccone, F. *Journal of Architectural Engineering*, **2018**, *24(1)*, 04017030. DOI: 10.1061/(ASCE)AE.1943-5568.0000285
3. Gravit, M., Zybina, O., Vaititckii, A., Kopytova, A. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, **2017**, *90 (1)*, 012103. DOI: 10.1088/1755-1315/90/1/012103
4. Gravit, M., Zybina, O., Vaititckii, A., Kopytova, A. *Advances in Intelligent Systems and Computing*, **2018**, *692*, 1093-1101. DOI: 10.1007/978-3-319-70987-1_118
5. Gusarova, M.S., Kopytova, A.V. *Bulletin of Omsk University,* **2014**, *4*, 14–22.
6. Kazannik, A.I. *Bulletin of Omsk University,* **2012***, 4 (33)*, 35-43
7. Kopytova, A., *MATEC Web of Conferences*, **2017**, *106*, 08056. DOI: 10.1051/matecconf/201710608056
8. Kopytova, A.V. *Exchange of Intellectual Property*, **2015**, *3 (XIV)*, 31–37.
9. Kopytova, A. *Procedia Engineering*, **2016**, *165*, 1132. DOI: 10.1016/j.proeng.2016.11.830
10. Lamminpiya, A.M., Zaschirinskaia, O.V., Shelepin, Y.E. *Fiziologiia Cheloveka*, **2015a**, *41(2)*, 23-28.
11. Lamminpiya, A.M., Zaschirinskaia, O.V., Shelepin, Y.E. *Human Physiology*, **2015b**, *41(2)*, 130-134.
12. Lezier, V., Gusarova, M., Kopytova, A. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, **2017**, *90(1)*, 012034. DOI: 10.1088/1755-1315/90/1/012034
13. Lezier, V., Gusarova, M., Kopytova, A. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, **2017**, *90(1)*, 012069. DOI: 10.1088/1755-1315/90/1/012069
14. Liu, B., Perry, J.L. *Review of Public Personnel Administration*, **2016**, *36-1*, 4-30. DOI: 10.1177/0734371X14549672
15. Minnullina, A. *MATEC Web of Conferences*, **2017**, *106*, 08067. DOI: 10.1051/matecconf/201710608067
16. Minnullina, A., Abdrazakov, R. *Advances in Intelligent Systems and Computing,* **2018**, *692*, 1224-1233. DOI: 10.1007/978-3-319-70987-1_131
17. Minnullina, A., Abdrazakov, R. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, **2017**, *90(1)*, 012089. DOI: 10.1088/1755-1315/90/1/012089
18. Mitrofanova, E.A. *Personnel and Intellectual Resources Management in Russia*, **2014**, *2*, 36-41.
19. Mottaeva, A., Minnullina, A. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, **2017**, *90(1)*, 012123. DOI: 10.1088/1755-1315/90/1/012123
20. Nagymzhanova, K. *Life Science Journal*, **2013**, *10(12)*, 439-443.
21. Pykhtin, K., Simankina, T., Sharmanov, V., Kopytova, A. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, **2017**, *90(1)*, 012065. DOI: 10.1088/1755-1315/90/1/012065
22. Stritch, J.M., Christensen, R.K. *International Journal of Manpower*, **2016**, *37-5*, 840-858. DOI: 10.1108/IJM-12-2014-0249
23. Tepe, M. *Public Management Review*, **2016**, *18-4*, 508-538. DOI: 10.1080/14719037.2015.1014396
24. Yeo, J. *International Journal of Public Administration,* **2016**, *39-3*, 216-225. DOI: 10.1080/01900692.2015.1004083
25. Zotkina, N., Bardasov, S., Gusarova, M., Kopytova, A. *MATEC Web of Conferences*, **2017**, *106*, 08050. DOI: 10.1051/matecconf/201710608050

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

26. Zotkina, N., Gusarova, M., Kopytova, A. *Advances in Intelligent Systems and Computing*, **2018**, *692*, 1204-1213. DOI: 10.1007/978-3-319-70987-1_129

27. Zotkina, N., Kopytova, A., Zenkina, M., Zhigunova, O. *MATEC Web of Conferences*, **2017**, *106*, 08058. DOI: 10.1051/matecconf/201710608058

28. Zotkina, N.S., *Finances and Credit*, **2011**, *48 (480)*, 21-28.

29. Zotkina, N.S., Kopytova, A.V. *Economics and Entrepreneurship,* **2014**, *12–2(53–2)*, 714–719.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 1. Results of the survey of students during the probation of electronic testing

Parameters characterizing the test	**Rank of significance (1 - least significant, 5 most significant)**	**Execution**
1. The complexity of the questions	5	4,8
2. Quality of performance	4	4,6
3. Number of questions	3	4,2
4. Convenience of passage	4	3,7
5. Time Spent	4	4,9
6. Participation of the teacher in the process	2	3,5
7. Workplace equipment	4	3,1
Overall rating	5	4,8

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

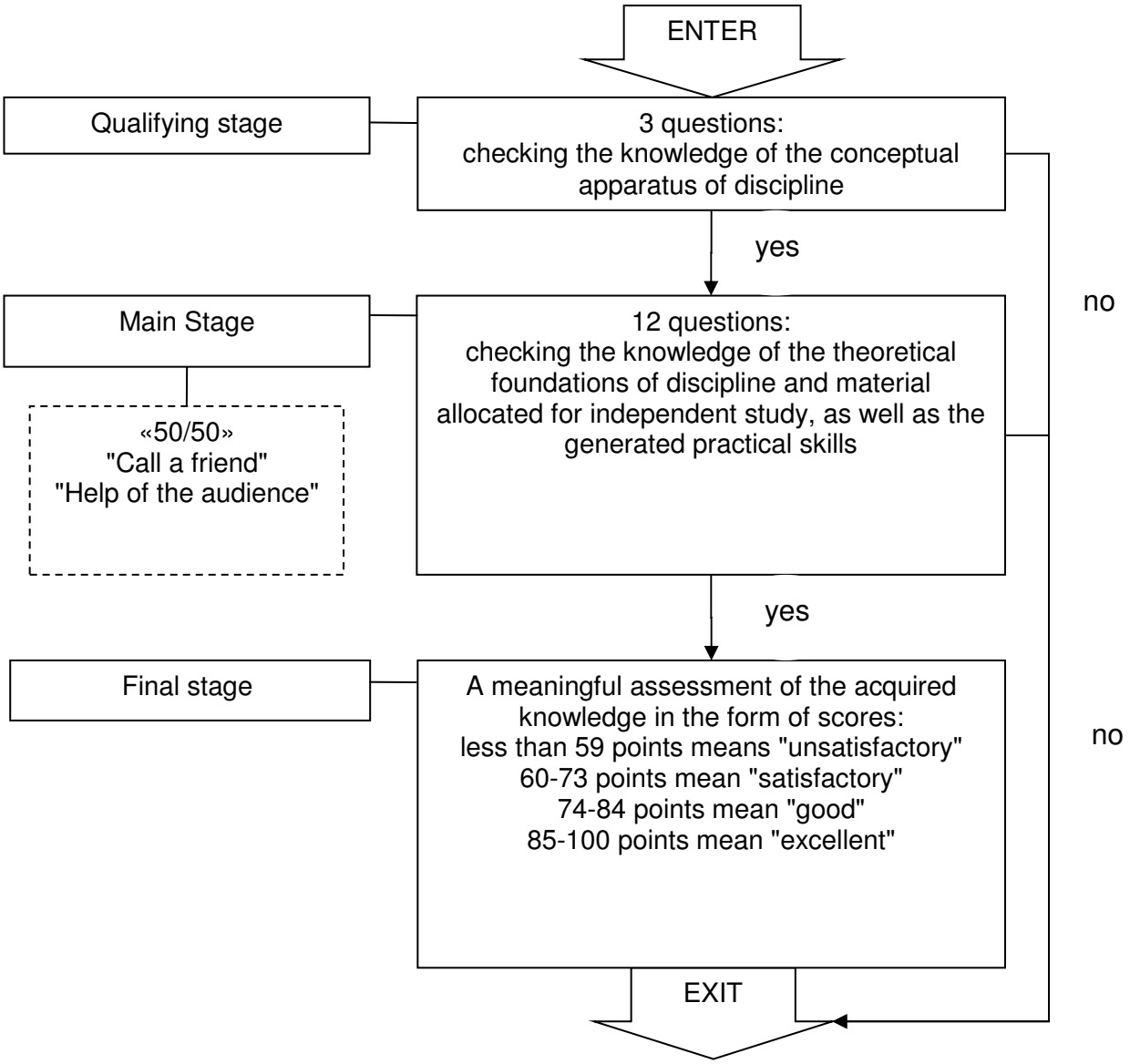


Figure 1. *Algorithm of the process of electronic testing*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

NOVAS ESPECIFICAÇÕES DA TEORIA DE CORTE DO SOLO

NEW SPECIFICATIONS OF THE THEORY OF GROUND CUTTING

НОВЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ ТЕОРИИ РЕЗАНИЯ ГРУНТОВ

KADYROV, Adil S.[1]; AMANGELDIEV, Nariman E.[2*]

[1, 2] Karaganda State Technical University, Department of Transport Engineering and Logistic Systems, 56 Mir Blvd., zip code 100027, Karaganda – Republic of Kazakhstan
(phone: +77212564422)

** Corresponding author*
e-mail: amangeldiev@list.ru

Received 12 June 2018; received in revised form 30 November 2000; accepted 03 January 2019

RESUMO

A terraplanagem é realizada por uma diversidade de máquinas de escavação: escavadeiras, raspadores, motoniveladoras, escavadeiras de dragagem, máquinas de escavação, instalações de perfuração, etc. Um número de pesquisadores estavam envolvidos no corte do solo e em geral, a teoria de corte do solo é bastante desenvolvida. Entretanto, suas disposições estão corretas para a determinação de máquinas do solo realizando cortes quase retilíneos próximos a uma superfície, em meio desidratado. Como mostra a prática, as disposições conhecidas da teoria do corte não permitem calcular a precisão do modo e carregamento dessas máquinas. Este artigo é dedicado ao estabelecimento das regularidades que determinam a resistência do solo à destruição por máquinas de perfuração e fresamento de construção. As dependências determinadas que determinam a lei da modificação de uma esquina de uma pastilha cortando o solo em uma função do acoplamento, pressão no solo, pressão hidrostática e hidrodinâmica em uma superfície, o ângulo do corte, os ângulos de fricção interna e externa são determinados. Coeficientes de condições de trabalho que descrevem um quadro de alta qualidade do corte do solo são recebidos e dão uma razão de forças em caso de destruição retilínea do solo às forças que surgem no caso de sua moagem.

Palavras-chave: *corte de solo, resistência, força, coeficientes, corpo de trabalho, máquinas de escavação.*

ABSTRACT

Earthwork is performed by some digging machines: excavators, scrapers, graders, dragline excavators, ditching machines, boring installations, etc. Some researchers were engaged in the cutting of soil, and in general, the theory of cutting of soil is rather developed. However, its provisions are correct to the determination of machines of the soil performing almost rectilinear cutting close to a surface, in a dehydrated medium. As practice shows, the known provisions of the theory of cutting do not allow to calculate accuracy the mode and loading of these machines. This article is devoted to the establishment of the regularities determining soil resistance to destruction for construction boring and milling machines. The determined dependences determining the law of change of a corner of a chip when cutting soil as a function from the coupling, pressure in soil, hydrostatic and hydrodynamic pressure upon a surface, the angle of cutting, the angles of internal and external friction are determined. Coefficients of working conditions which describe a high-quality picture of cutting of soil are received and give a ratio of forces in case of rectilinear destruction of soil to forces arising in case of its milling.

Keywords: *cutting of soil, resistance bearing, force, coefficients, working body, digging machines.*

АННОТАЦИЯ

Земляные работы выполняются рядом землеройных машин: экскаваторы, скреперы, грейдеры, экскаваторы-драглайны, канавокопательные машины, буровые установки и т.д. Ряд исследователей

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

занимался резкой грунта, и в целом теория резания грунта достаточно развита. Однако, его положения верны для определения машин почвы, выполняющих практически прямолинейную резку вблизи дневной поверхности, в обезвоженной среде. Как показывает практика, известные положения теории резки не позволяют рассчитывать точность режима и нагрузки этих станков. В связи с этим данная статья посвящена установлению закономерностей, определяющих устойчивость грунта к разрушению для строительно-расточных и фрезерных станков. Установлены зависимости, определяющие закон изменения угла стружки при резке грунта как функции от сцепления, давления в грунте, гидростатического и гидродинамического давления на поверхность, угла резания, углов внутреннего и внешнего трения. Получены коэффициенты условий труда, которые описывают качественную картину вырезывания грунта и дают соотношение сил при прямолинейном разрушении грунта к силам, возникающим при его фрезеровании.

Ключевые слова: *резка грунта, щепка, контактная нагрузка, сила, коэффициенты, рабочий орган*

INTRODUCTION

In the Republic of Kazakhstan, huge amounts of earthwork are carried out. It concerns both the mining industry and also construction. Development of soil and rocks is the main transaction of engineering procedure of a bases construction. At the same time, by resource intensity this transaction exceeds others. Digging machines are the leading link of engineering procedure of construction. Some digging machines, for example, milling and boring, have working bodies of small diameter, work deeply from the surface of the soil, in the environment of clay solution or water (Baimakhan *et al.*, 2008; Mendekeev and Turgunbaev, 2016; Mendekeev and Turgunbaev, 2015; Mendekeev and Turgunbaev, 2017). These working conditions are characteristic of construction of underground constructions by method "wall in soil" and the device of bored piles. As practice shows the known provisions of the theory of cutting do not allow to calculate with sufficient degree accuracy the mode and loading of these machines (Baimakhan *et al.*, 2016). Therefore, the problem of determination of drag forces of machines cutting working at big depths in the environment of liquid and with small curvature of movement of the working body is urgent (Turgunbaev, 2017; Mikheev, 2016; Alyabyev and Kalinin, 2016).

The theory of ground cutting is the section of mechanics of grounds devoted to ground destruction by separating shaving from the ground massif. The theory of ground cutting is rather well developed for calculation of parameters of the digging cars working at small depths (up to 15 m), in the conditions of "dry" face, at movement trajectories of cutting tools close to rectilinear. Its provisions are correct when calculating loading of excavators, graders, bulldozers and other similar cars (Abukhanov, 2006; Kochetkova, 2012; Khaibullin, 1989). However so far the regularities considering influence on force of cutting depth, face, curvature of movement trajectory of cutting tools, hydrodynamic and hydrostatic pressure upon the face when destructing the ground under a layer of clay solution or in water), degrees of a filtration of bottom-hole liquid into the ground aren't defined in it. There is the whole class of machines which the listed conditions characterize operation. These are the milling and boring cars used at construction by way of "a wall in a ground" and the device of bored piles. The especially difficult process is ground milling when going through narrow and deep trenches in the environment of the clay thixotropic solution necessary for preventing the walls of a trench from destruction (Lukashuk *et al.*, 2018; Petrochenko, 2018; Vakhidov *et al.*, 2014; Sokolov, 2018a; Sokolov, 2018b; Sokolov, 2018c; Sokolov *et al.*, 2017; Sokolov and Ryabinov, 2015).

MATERIALS AND METHODS

For setting resistance forces to milling, we will solve the following problems in the methodical sequence:

1. Let's sort out the value of the cutting force relations by the known techniques (in the dry face, with a small depth of the face (H<10m)) to cutting force taking into account the listed features.

2. Let's determine specific forces of giving and rotation of a mill on the face considering the experimental and theoretical results.

3. Let's confirm the received dependences experimentally.

Let's consider the balance of an element of the cut-off shaving in the period, preceding the

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

chip. In a shaving element with the speed of a sound, the shock wave of tension leading to the destruction of the ground extends. The front of the deformation wave deviates from the normal one to the front side of the cutting tool on the friction angle μ. The tension of elastic deformation causes volume deformation of the ground in coherent molecular grounds which we consider there are also plastic deformations. These deformations are characterized by a change of shaping and emergence of a core of consolidation in front of the cutting tool. After formation of a core and energy accumulation of elastic deformations (Abukhanov, 2006; Yoshida *et al.*, 2013; Ustinov and Shchipunov, 2014) overcomings force of adhesion of the ground on the so-called platform of a chip occurs (the line a-b in Figure 1).

RESULTS AND DISCUSSION:

The element of the chopped-off shaving (ABC) is affected by force of the normal pressure N_p, geostatic pressure P_σ, hydrostatic $P_{h.s.}$ and hydrodynamic pressure $P_{h.d.}$, shaving P weight, the centrifugal force of $P_{c.f.}$, arising because of curvilinearity of the movement of the cutting tool, normal and tangent reactions from the ground at the area of the chip of R^E and R^n. The small radius of the trajectory of the movement of the cutting tool increases the friction of the rear side of the cutting tool to the ground on which there are ground resistance forces R^{τ}_{cm} and R^{δ}_{cm}. The rear side of the cutting tool is affected by forces of hydrostatic and hydrodynamic pressure. Forces which accounting at the description and chip of the ground element, we consider for the first time in the figure are noted by a star (*).

We consider what the liquid environment in the face (solution, water) was filtered for the value hf. The thickness of the cut makes h, and it consists of the thickness of the cut of hp and collapse hcm. The platform of the chip is tilted to the tangent to the cutting trajectory at the angle ψ. The cutting tool has b width, the angle of cutting δ, rear angle ν, the width of the wear platform a. The trajectory of the movement of the cutting tool is tilted to the horizontal at the angle β (Shepel and Sychev, 2014; Shepel, 2015; Kravets and Stonio, 2016).

According to the scheme in Figure 1, the weight of the element of the cut-off shaving and centrifugal force are defined by expressions (Equations 1, 2), where r – the radius of trajectory curvature of the cutting tool movement. Milling and boring cars work at big depths. By the existing techniques force of ground, cutting is determined without taking into account its change by depth (Nelozerov and Savekiev, 2010; Janosevic *et al.*, 2012; Babich, 2016). Meanwhile, with an increase in depth the geostatic household pressure of liquid increases in the ground. The Soviet scientist N.M. Gersevanov (Gotman and Glazachev, 2014) proved the principle of the hydro capacity of the ground. Use of the principle of hydro capacity gives the chance to resolve the issues connected with the change of tension of the condition of the ground skeleton.

At a depth of Z the ground element (Figure 2) is affected by the main tensions:

$$\sigma_1 = \rho_2 Z y,\ \sigma_2 = \rho_2 Z y \theta,$$

where θ – coefficient of the side spreader of the ground skeleton.

When discharging the ground of the communications with the massif, pressure, and spreader are eliminated, however, the content of water in pores, and therefore the coefficient of porosity does not change. In this period the ground element is under comprehensive internal pressure σσ, arising owing to aspiration of the destroyed ground sample to expansion. Proceeding from the research (Gotman and Glazachev, 2014), it is fair (Equation 3), where γ3 – the specific weight of ground particles; ε – porosity coefficient.

The accounting of the internal pressure through the coefficient of the side spreader is complicated by the complexity of its definition. It is more convenient to determine this size through the coefficient of cross deformation of ground Kc, (Equation 4) then (Equation 5), or having designated (Equation 6), we obtain $\sigma_\sigma = \theta_n Z \rho_2 q$. The coefficient of cross deformation of the ground Kc can accept values only ranging from 0 to 0,5. The values are impossible as in this case, the sign of volume deformation would change, that is when compression there would be the expansion of the body. For example, for clays, the coefficient of cross deformation is equal to 0,17.

The tangent tension of shift increases at the increase of depth of cutting due to an increase of the internal pressure of the ground, also resistance to the shaving separation

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

increases. Therefore (Equation 7), where τ_1 – tangent tension to shift on the day surface. The element of the cut-off shaving is affected by the hydrostatic pressure of the liquid (Figure 2, the line bc). The area of pressure of F_p – Equation (8).

When the movement of liquid in the face under the influence of rotation of the mill pressure put upon the face will be defined by the hydrostatic pressure of a column of liquid and hydrodynamic pressure created by rotation of the mill, according to the Bernoulli law, the force operating on the face P_{zh} will be defined by the expression (Boldirev and Malyshev, 2009; Kadyrov and Haibullin, 2007) (Equation 9).

Dependence allows considering both the hydrostatic and hydrodynamic pressure upon the face. When using the formula (9) in practical calculations, it is necessary to multiply the second addend of the right part on the coefficient considering the form of the moving element. In the process of milling the layer-by-layer removal of the ground from the face (on the thickness of the cut-off shaving) occurs. If work happens at the bottom of a reservoir, the ground is, as a rule, filtered by water on all depth of the face. In this case, the cutting tool is affected by the volume hydrostatic and hydrodynamic pressure changing cutting force. At the same time physical and mechanical properties of the ground change, including the angles of external and internal friction, the chip angle, etc. This process is rather investigated by Nedorezov I. A., Turgumbayev Zh., Ogorodnikov S. P. (Nedorezov and Savekiev, 2010; Gotman and Glazachev, 2014). If filtration depth for one turn of rotation of the mill is insignificant, then the total pressure of liquid upon the area of S is overcome. With a depth of filtration of h_f the shaving exceeding thickness, the process is similar to cutting in completely filtered (water-saturated) grounds. These two options are a boundary.

Shatalov A. A. assumed that force of P_{hs} depends on the coefficient of pressure transmission. The value of this coefficient reaches the greatest values in grounds with the smallest permeability and the smallest values in the poor bound sands. The physical sense of the coefficient was displayed by Kadyrov A.S., who offered that its value is always less or is equal to one and it is the more, the more liquid filtration speed value in the ground – V_f and the less, the less the considerable speed of giving the working body to the face v (Equation 10), where η – coefficient of drive of pressure (Equation 11)

Increasing η the ratio of values of the thickness of filtration shaving h_f and cutting h_p increases, and the area of the sinking of the cutting tool through hydrostatic pressure through the face decreases. Geometrically the line *a*-*b* is replaced by the b'-c' line (Figure 1). The filtration speed is determined according to the Darci law, having the representation (Equation 12), where K_f – the filtration coefficient fluctuating from $1 \cdot 10^{-7}$ m/s for clays and $1 \cdot 10^{-3}$ m/s for the grave and sandy grounds; J – piezometric pressure. The filtration speed is measured by the volume of the liquid passing through a unit of area. The piezometric pressure is a hydraulic gradient equal to the difference in pressures per unit length of the filtrational line. The pressure on the face which is at Z depth, being according to the Bernoulli law is equal (Equation 13). The hydraulic line was defined as a half of a circle (for milling the face), then piezometric pressure (Equation 14), where $Z_1=0$ – initial ordinate of driving; $L_0=0$ – circle length at the beginning of the turn.

Taking into account the received dependence, piezometric pressure was determined in Equation (15). The received expression differs from the formula (12) and considers geometrical mill parameters and speed of ground cutting. Taking into account the value η and dependence (11) the liquid pressure upon the face is defined with by dependence (Equation 16). The influence of P_l value on tangent resistance to shifting is equal (Equation 17). In Figure 1 shear zones and ground cutting are shown. Shear occurs on the area of wear of a cutting tool when milling the area, the shear increases because the force of cutting deviates the tangent to the trajectory of the movement at the angle β_{fr}. This angle arises as a result of the addition of absolute and figurative speeds of the movement of a mill. Values of this angle from 2^0 to 4^0 aren't important when calculating forces of cutting by a sharp knife, but considerably influence the formation of the shear platform. The relation of the shear areas and cutting (1) will be defined by the following dependence (Equation 18), where h_u – height of the platform of wear; K_{sh} – coefficient a ground smyatiya.

The resistance of the ground shear considerably exceeds the resistance when cutting. In this regard, we offer to consider an increase in the force of cutting because of ground shear, coefficients K_ω. The offered coefficient K_ω depends on the radius of the trajectory of the

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

movement of the cutting tool, and it is the more, the more the radius as the shear area of the ground due to the reduction of the volume of the face increases is less. This assumption has to be checked experimentally.

The received dependences allowed to define the cutting force formula as the sums of cutting forces on "dry" additional forces of cutting from geostatic, hydrostatic and hydrodynamic pressure. The coefficients of working conditions representing the relation of additional force of cutting to cutting force on "dry" and on a day surface were defined for this purpose (Equations 19-22), where K_δ, K_c, K_p and K_c – respectively coefficients of working conditions taking into account the geostatic pressure (K_δ); hydrostatic and hydrodynamic pressure (K_c); curvature of the trajectory of the cutting tool movement (K_ω); the weight of shaving (K_p) and the centrifugal force operating on shaving of K_c.

The value unit in formulas (19, 20, 21) considers cutting force in usual conditions. When taking into account of increment of cutting force, it is necessary to subtract a unit. The values of centrifugal forces and the weight of shaving are small (by calculations no more than 1%), and while carrying out the experiment, they entered a systematic mistake. Due to it, it is fair in Equation 22, where N_p^{Σ} - the total cutting force. After substitution of the values K_ω, K_c, K_δ it is received (Equation 24), where α_z – the coefficient considering the joint influence of geostatic and hydrodynamic pressure. It is more convenient to consider the value of coefficient K_ω as cutting force multiplication factor as it isn't connected with driving depth. Besides, it is difficult defined theoretically and established by us experimentally. In this regard, we received Equation 25. Proceeding from the analysis of the value of coefficient αz it follows that forces of geostatic and hydrostatic components of cutting force by depth grow up, and hydrodynamic force remains unchanged.

In case of impossibility to determine the value of coefficient K_ω experimentally its value is equal to one in dependence, and the formula is added with $h_{cm}/(1- h_c)Z$.

The coefficient K_ω is specified in the expression as a factor, for the purpose of convenience of polynomial grouping on Z depth. The coefficient has a representation (Equation 26). The following investigation phase was the establishment of settlement formulas of forces of ground destruction. The received early dependences allow to define a ratio of various components of cutting forces. But τ provides very inexact results (Vetrov, 1971). For receiving more exact settlement formulas specific forces of resistance to cutting on the front side of the cutting tool of m_{free} and the side of the cutting tool m_{side} are used. These specific forces are received by the academician Vetrov Yu.A. experimentally and repeatedly checked in operation of digging cars.

In average forces and geometry, the cutting tool of a mill is affected by forces of resistance to cutting on front m_{free} and side of the cutting tool of m_{side}, resistance shear m_{sh}, and also effort of giving and torque of M. Having designed forces on the vertical axis having taken a sum moment concerning the point 0 (Figure 3) we will receive effort of giving and torque for ground milling (Equation 27), where A and B – the specific forces of resistance to giving and rotation of a mill depending on specific forces of resistance of ground destruction by side and front sides (Equations 28, 29), where λ – the coefficient considering deviation of the angle of cutting from 45^0 at values of the angle of cutting the 45^0 this coefficient is equal to one.

Specific forces A and B depend on experimental values of forces m_{free} and m_{side}, cutting radius R, the width of cutting tools b, the angle of cutting δ, numbers of cutting tools on i mill. The effort of giving Q and torque M defined through sizes A and B yield results, quite exact for the theory of cutting when cutting at small depths and in a dry face (mistake not more than 17%) (Zharnitski, 2005). Taking into account working conditions at a considerable depth and in the environment of clay solution, having used the equation (23) we will receive Equation (30). The stands which are carrying out cutting by a single cutting tool (Figure 4) a full-size mill (Figure 5) were developed for carrying out the third investigation phase.

The experiment at the CP-1 stand showed that resistance to cutting at the rotary motion of the cutting tool of working body increases in comparison with the force of cutting arising on the same cutting tool (Figure 6), moving rectilinearly. On a tray of rectilinear cutting, the cutting force was determined for the same parameters as at progress. The value of the increment depends on the radius of rotation of the working body and speed of cutting. Coefficient K_ω was determined

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

by the size of the relations of forces of cutting at a curvilinear and in-line motion of the cutting tool.

Increase in speed of cutting leads to increase of cutting force (Figure 6, a), and the less is rotation radius, so much the more the resistance of the soil grows up for destruction. At a reduction of radius the cutting force increases, at the same time, its value decreases at the reduction of speed of cutting (Figure 6, b). The coefficient K_ω increases at the reduction of the radius of force application asymptomlessly approaching cutting force at in-line motion (Figure 7). It follows from the schedule that coefficient K_ω is necessary to be considered at rotation radiuses less than 0,3 m. Change of cutting speed insignificant influences the coefficient K_ω. At speeds v<1,4 m and radiuses R>0,3 m the cutting force can be calculated without consideration the K_ω value. However, the parameters of milling and boring cars, as a rule, don't fit into these limits.

At rotary motion, the cutting speed more considerably influences the cutting force, than at rectilinear cutting with the speed 2,5 m/s the gain made 11%, and when milling (R=0,5 m), it made 19%. Nonlinearity of dependence is defined by the constancy of value $P_{h.d}$ (Figure 8). The values of specific forces for six categories of ground are given in Table 1.

CONCLUSIONS:

The resistance to cutting by side edges of a knife doesn't change in the dependence on the trajectory of the movement. In general, the results of the experiment confirmed the analytical conclusions. Definition of the influence of hydraulic pressure of clay solution upon the cutting force was carried out at the stand of modeling of milling SMP-1. The construction of the stand represented a hermetic enclosure with the ground container. In the stand one or two horizontal mills were placed. The container filled a ground entirely or which is filled up with the sand moved on mills by the hydraulic cylinder. The pressure up to 25 MPas was created by the ground pump compensating solution escapes. The drive gear of mills was carried out by shafts from hydraulic motors.

The tense torque shaft was registered, the effort of giving pressure by strain gage which is built into the hydraulic cylinder, the container course – the sensor of motion. When experimenting the radius of milling changed, mills were made with a diameter 0,1 m, 0,2 m, 0,3 m, 0,4 m, 0,5 m. The number of cutting tools on mills varied from 4 to 24, the width of the platform of wear equaled to the width of the cutting tool and the platform of wear before the experiment had a value from 1·10-2 m to 0,25·10-2 m and was created artificially. Increase in force of cutting was fixed with the pressure 4 MPas that corresponds approximately to the driving in the trench in 10 meters.

REFERENCES:

1. Abukhanov, A.Z. *Soil Mechanics*, Moscow: Phenix, **2006**.
2. Alyabyev, A.F., Kalinin, S.Yu. *Forestry Bulletin*, **2016**, *20(2)*, 173-178.
3. Babich, Ya.O. *Bulletin of NUWEE. Series "Technical Sciences"*, **2016**, *73(1)*, 172-178.
4. Baimakhan, A.R., Rysbayeva, A.K., Seinassinova, A.A., Rysbayeva, G.P., Kulmagambetova, Z.K., Aliyeva, A.M., Baimakhan, R.B. Calculation of the stress state of certain elements of engineering structures. *International Journal of Applied Engineering Research*, **2016**, *11(12)*, 7698-7701.
5. Baimakhan, R., Danaev, N., Baimakhan, A., Salgaraeva, G., Ylyasova, G., Kurmanbekkizy, N., Kozhebayeva, A., Kulmaganbetova, Z., Zhakashbayev, B., Dashdorj, S. Recovery of anisotropic slope after the landslide. Geotechnical Engineering for Disaster Mitigation and Rehabilitation – Proceedings of the 2nd International Conference GEDMAR08, **2008**, pp. 611-615.
6. Boldirev, G.G., Malyshev, M.B. *Soil Mechanics. Grounds and Foundations (in Questions and Answers)*, Penza: PGUAS, **2009**.
7. Gotman, A.L., Glazachev, A.O. *Journal of Soil Mechanics and Foundation Engineering*, **2014**, *51(2)*, 60-66.
8. Janosevic, D., Mitrev, R., Andjelkovic, B., Petrov, P. *Journal of Zhejiang University "Science"*, **2012**, *13(12)*, 926-942
9. Kadyrov, A.S., Haibullin, R.R. *Nauka i Studia*, **2007**, *5(5)*, 110-115.
10. Khaibullin, R.R. *Author thesis… Doctor of Technical Science*, Karaganda State Technical University, Republic of Kazakhstan, **1989**.
11. Kochetkova, R.G. *Journal of Soil Mechanics and Foundation Engineering*, **2012**, *49(1)*, 12-15.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

12. Kravets, S.V., Stonio, O.V. *Scientific Journal of the NMU*, **2016**, *3*, 24-28.
13. Lukashuk, O.A., Komissarov A.P., Letnev, K.Yu. *Soil Development Machines. Design and Calculation: A Tutorial*, Ekaterinburg: Ural University Press, **2018**.
14. Mendekeev, R.A., Turgunbaev, M.S. *Bulletin of KSUCTA*, **2016**, *52(2)*, 95-99.
15. Mendekeev, R.A., Turgunbaev, M.S. *Mechanization of Construction*, **2015**, *854(8)*, 24-26.
16. Mendekeev, R.A., Turgunbaev, M.S. *Mechanization of Construction*, **2017**, *78(2)*, 53-58.
17. Mikheev, I.I. Bulletin of TvSTU, **2016**, *29(1)*, 48-52.
18. Nedorezov, Y.A., Savekiev, A.G. *Machine Building Production*, Moscow: MSTU behalf N.A. Bauman, **2010**.
19. Petrochenko, V.I. *Bulletin of Belarus State Agricultural Academy*, **2018**, *1.* http://elib.baa.by/jspui/bitstream/123456789/916/1/%D0%9F%D0%B5%D1%82%D0 % D1% 87% D0% B5% D0% BD% D0% BA% D0% BE% 20153-158.pdf, accessed November 2018.
20. Shepel, T.V. *PhD thesis*, National Mining University, Ukraine, **2015**.
21. Shepel, T.V., Sychev, A.V. *Modern Innovative Technologies for the Training of Engineering Personnel for the Mining Industry and Transport 2014: Materials of the Intern. Conf.* Dnipropetrovsk: NSU, **2014**.
22. Sokolov, N. One of geotechnical technologies to strengthen the foundation base in a constrained environment in the addition of 4 floors. *International Multidisciplinary Scientific GeoConference Surveying Geology and Mining Ecology Management, SGEM*, **2018**, *18(1.2)*, 513-522.
23. Sokolov, N., Ezhov, S., Ezhova, S. Preserving the natural landscape on the construction site for sustainable ecosystem. *Journal of Applied Engineering Science*, **2017**, *15(4)*, 518-523.
24. Sokolov, N.S. Ground ancher produced by electric discharge technology, as monolithic reinforced concrete structure. *Key Engineering Materials*, **2018**, *771*, 75-81.
25. Sokolov, N.S. One of geotechnological technologies for ensuring the stability of the boiler of the pit. *Key Engineering Materials*, **2018**, *771*, 56-69.
26. Sokolov, N.S., Ryabinov, V.M. Method for Calculation of the Bearing Capacity of Bore-And-Injection Piles Installed Using Electro-Charge Technology (ECT). *Soil Mechanics and Foundation Engineering*, **2015**, *52(1)*, 18-22.
27. Turgunbaev, M.S. *The Online Magazine "Naukovedeniye"*, **2017**, *9(3)*. http://naukovedenie.ru/PDF/98TVN317.pdf, accessed November 2018.
28. Ustinov, A.V., Shchipunov, A.N. *Ways to Increase Productivity in 80 Road Construction Machines on the Example of Trench Excavators: A Monograph*, Tomsk: Publishing house of Tomsk State University of Architecture and Construction, **2014**.
29. Vakhidov, U.Sh., Erasov, I.A., Molev, Yu.I., Shapkin, V.A. *Machines for the Development of Ice, Snow and Frozen Soil*, Nizhny Novgorod: NSTU Publishing House, **2014**.
30. Vetrov, Y.A. *Soil Cutting Digging*, Moscow: Mechanical Engineering, **1971**.
31. Yoshida, T., Koizumi, T., Tsujiuchi, N., Chen, K., Nakamoto, Y. *Conference Proceedings of the Society for Experimental Mechanics Series*, **2013**, *4*, 543-554.
32. Zharnitski, V.Ya. *Journal of Power Technology and Engineering*, **2005**, *39(3)*, 135-138.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

$$P_{c.b.} = \frac{PV_p^{\ 2}}{rg}(ctg\delta + ctg\psi); \quad (1)$$

$$P = \frac{bh^2\rho_2 g}{2} ctg\delta + ctg\psi); \quad (2)$$

$$\sigma_\sigma = \frac{(1+2\theta)\gamma_3}{3(1+\varepsilon)} Zg = \frac{1+2\theta}{3} Z\rho_2 \text{ g}, \quad (3)$$

$$\theta = \frac{K_n}{1-K_n}, \quad (4)$$

$$\sigma_\sigma = \frac{1+K_n}{3(1-K_n)} Z\rho_2 g, \quad (5)$$

$$\theta = \frac{1+K_n}{3(1-K_n)}, \quad (6)$$

$$\tau = \tau_1 + \sigma_\sigma tg\varphi, \quad (7)$$

$$S = b \cdot h \cdot (ctg\delta + ctg\psi), \quad (8)$$

$$P_{zh} = \rho_c \cdot g \cdot Z \cdot F_\partial + \rho_c \frac{V_p^2 \cdot S}{2}, \quad (9)$$

$$\eta = 1 - \frac{V_{ph}}{V} = 1 - \frac{h_{ph}}{h_{ph}}, \quad (10)$$

$$h_p = hp - h_{ph}. \quad (11)$$

$$V_f = K_f \cdot J, \quad (12)$$

$$H = Z + \frac{V_p^2}{2g} \quad (13)$$

$$\frac{\Delta H}{\Delta L} = \frac{Z - Z_1}{\pi R - L_0} = \frac{Z}{\pi R} + \frac{V_p^2}{2\pi Rg}, \quad (14)$$

$$V_\text{f} = \frac{K_\text{f} Z}{\pi R} - \frac{K_\text{f} V_p^2}{2\pi Rg}. \quad (15)$$

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

$$P_{zh} = \eta\rho_c gZ(\mathrm{ctg}\,\delta + \mathrm{ctg}\,\psi) + \rho_c h\frac{V_p^2}{2}(ctg\delta + ctg\psi) \quad (16)$$

$$\tau = \tau_1 + P_{gd}tg\varphi. \quad (17)$$

$$K_{sh} = \frac{h_u}{h - h_u}, \quad (18)$$

$$K_\delta = \frac{\tau_1 + \sigma\delta tg\varphi}{\tau_1} = 1 + \frac{\sigma\delta}{\tau_1}tg\varphi, \quad (19)$$

$$K_c = \frac{\tau_1 + P_{gs}tg\varphi}{\tau_1} = 1 + \frac{\eta\rho_c Zgtg\varphi}{\tau_1} + \frac{\rho_c V_p^2 tg\varphi}{2\tau_1}, \quad (20)$$

$$K_\omega = 1 + \frac{h_c}{h - h_c} = 1 + K_c,. \quad (21)$$

$$K_p = \frac{\rho_2 gh}{\tau_1} \text{ и } K_c = \frac{V_p^2\rho_2 h}{2R\tau_1}, \quad (22)$$

$$N_p^\Sigma = N_p + N_p(K_\delta - 1) + N_p(K_c - 1) + N_p(K_\omega - 1), \quad (23)$$

$$N_p^\Sigma = N_p K_\omega(1 + \alpha_z \mathrm{Z}), \quad (24)$$

$$N_p^\Sigma = K_\omega(1 + \alpha_z \mathrm{Z}). \quad (25)$$

$$\alpha_z = \frac{\theta\rho_c gtg\varphi}{\tau_1} = 1 + \frac{\eta\rho_c gtg\varphi}{2\tau_1} + \frac{\rho_c V_p^2 tg\varphi}{2\tau_1 Z}. \quad (26)$$

$$\begin{cases} M = BhR; \\ Q = Ah, \end{cases} \quad (27)$$

$$B = 0,5i\lambda bm_{free}\left(1 + a\right) + im_{lat.sh}; \quad (28)$$

$$A = 0,5i\lambda bm_{free}\{\left(1 + a\right)\cos\phi_{sh} + ctg\left(\delta + \mu\right)\} + im_{lat.sh}[\cos\phi_{sh}ctg\left(\delta + \mu\right)]\sin\phi_{sh} \quad (29)$$

$$\begin{cases} M = BK_\omega(1 + \alpha_Z Z)hR; \\ Q = AK_\omega(1 + \alpha_Z Z)h, \end{cases} \quad (30)$$

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

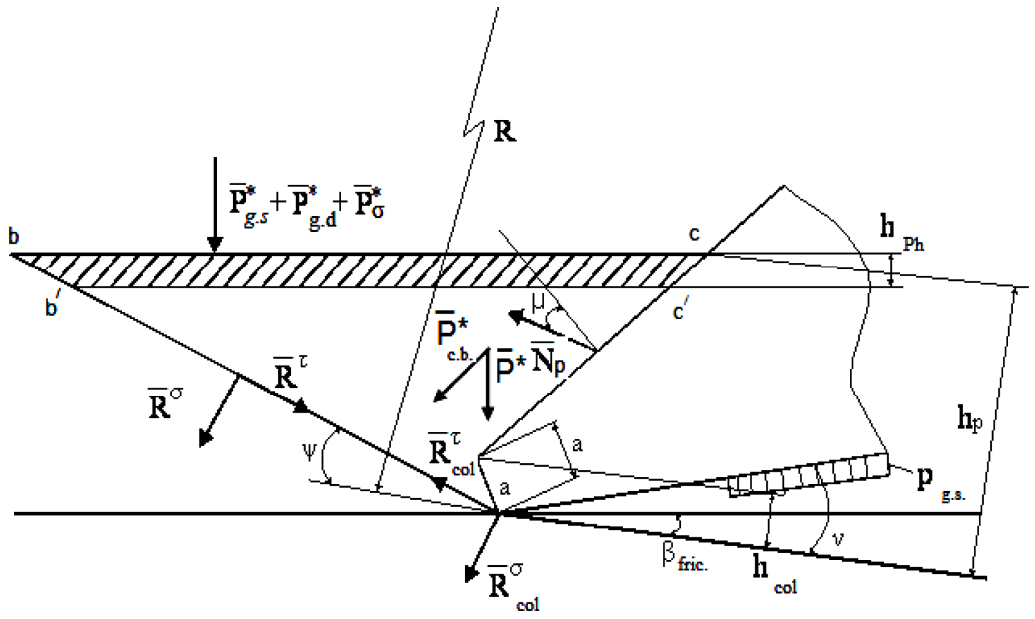


Figure 1. *The scheme of forces operating on the element of the cut-off ground shaving*

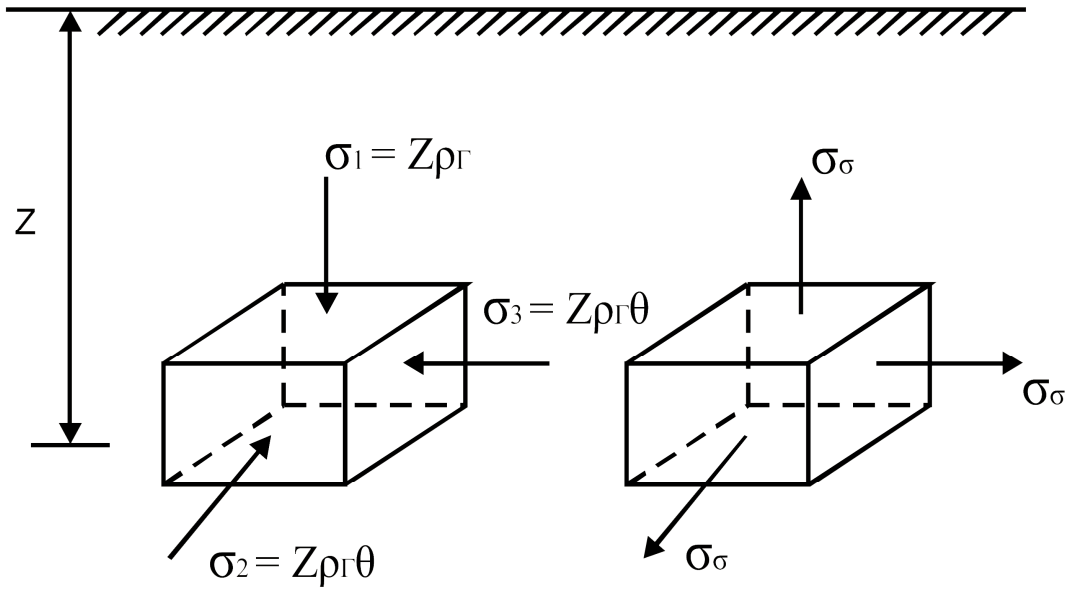


Figure 2. *The main tension in ground a – in natural bedding; b – exempted from communications*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

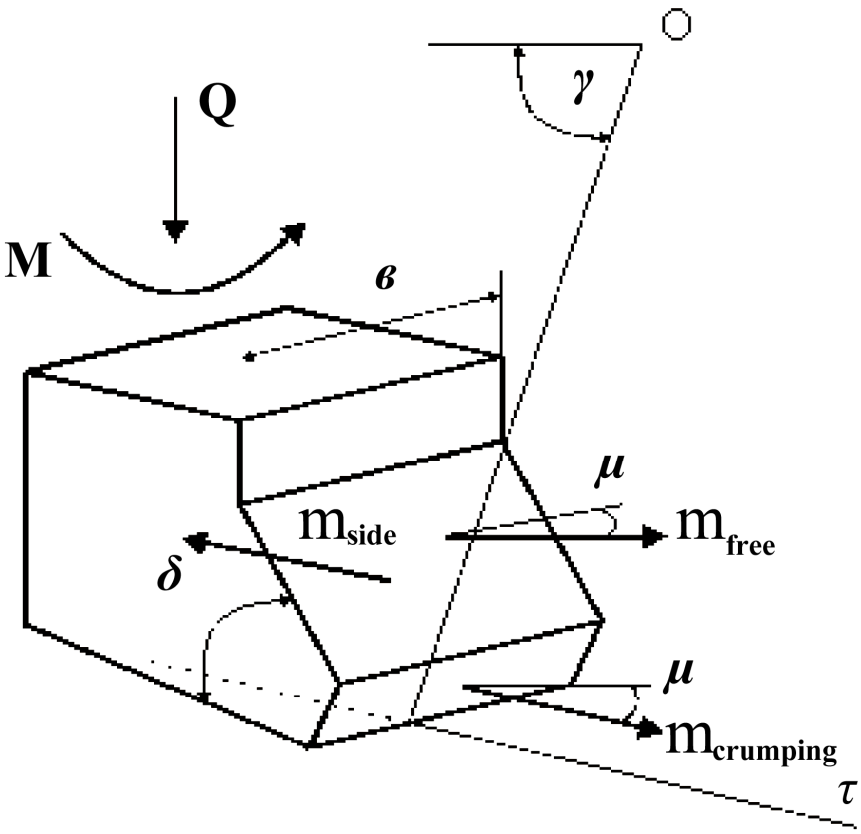
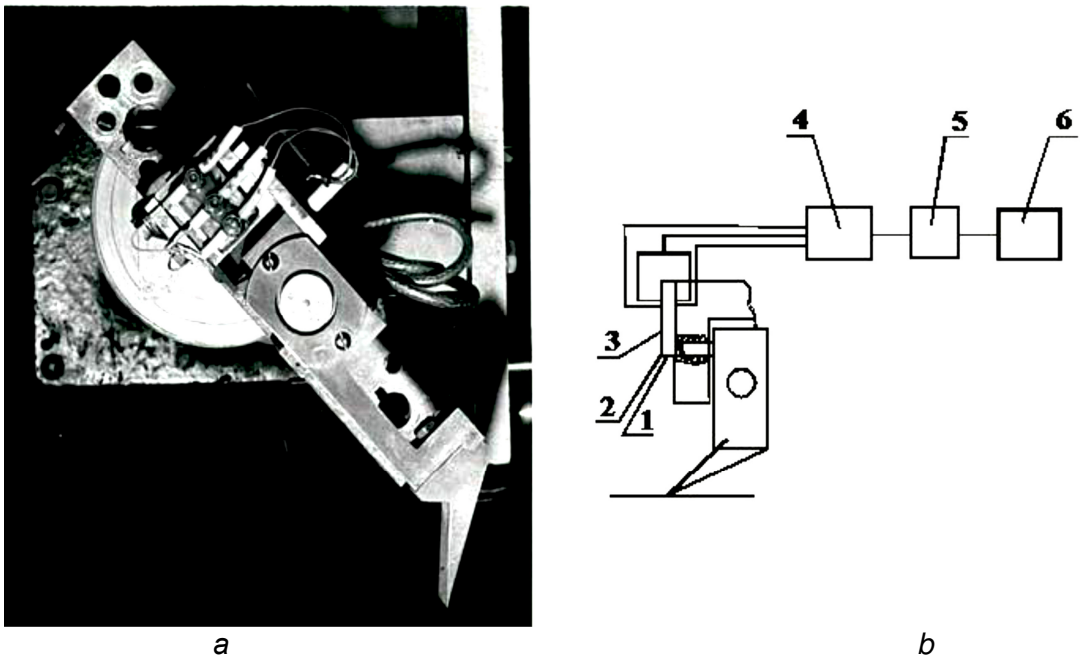


Figure 3. *The scheme of forces operating on the cutting tool of milling WP*



a *b*

Figure 4. *Tense cutter (a) and scheme of cutting tool (b) of the SR-1 stand: 1 – tense cutter; 2 – tense gages; 3 – tense booster; 4 – oscillograph; 5 – power supply unit; rectifier*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

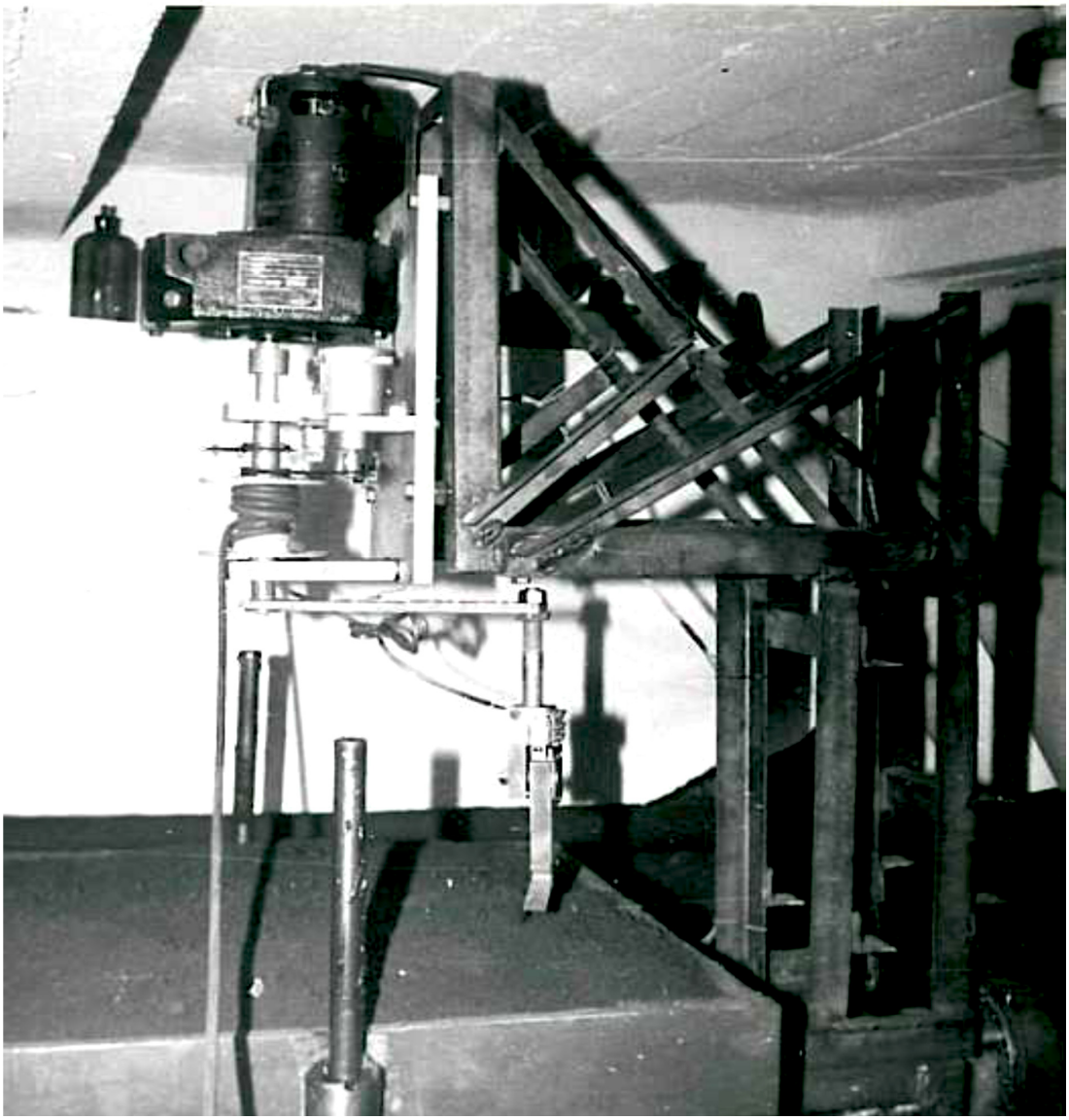
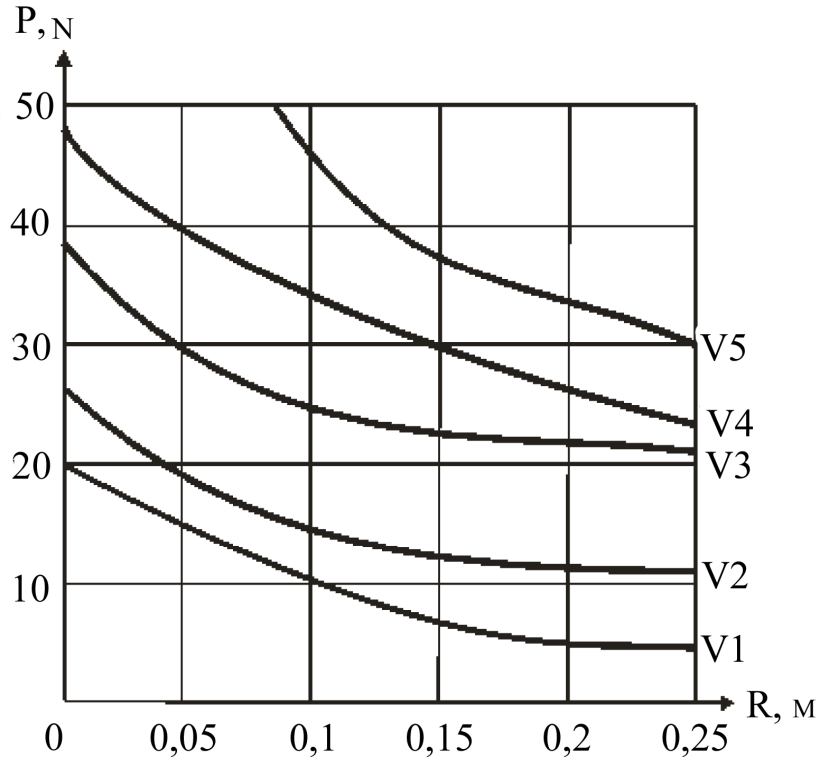
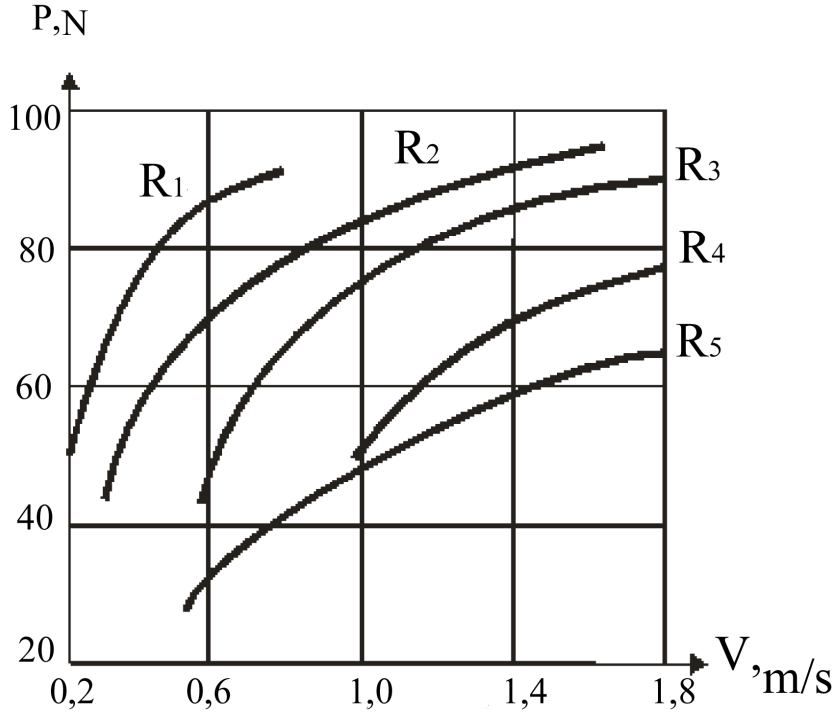


Figure 5. *The stand for a full-size test of milling working bodies*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil



a) V_1 = 0,05m/s; V_2 = 0,1 m/s; V_3 = 1 м/s; V_4 = 1,5 м/s; V_5 = 2,5 м/s.



b) R_1 = 0,05m; R_2 = 0,1 m; R_3 = 0,15 m; R_4 = 0,25 m; R_5 = 0,475 m/s.

Figure 6. *Dependence of the cutting force by a single cutting tool on the radius of milling (a) and speed of cutting.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

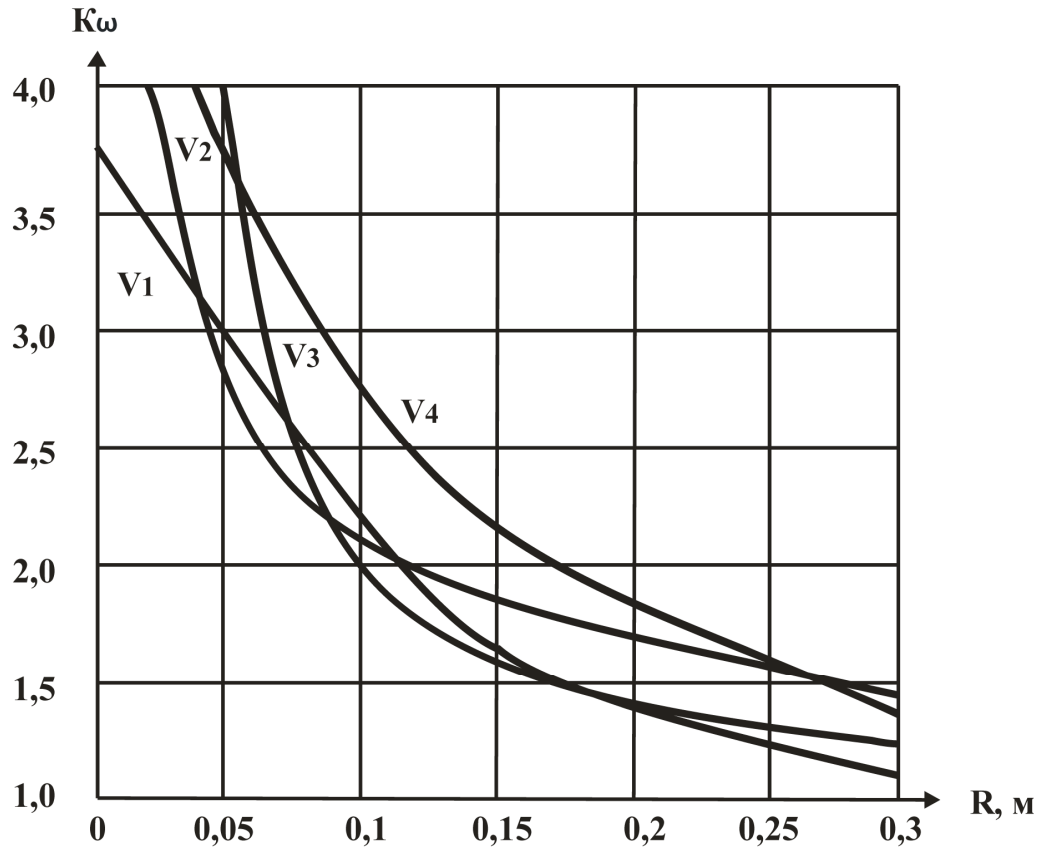


Figure 7. *Dependence of the coefficient K_ω on milling radius*

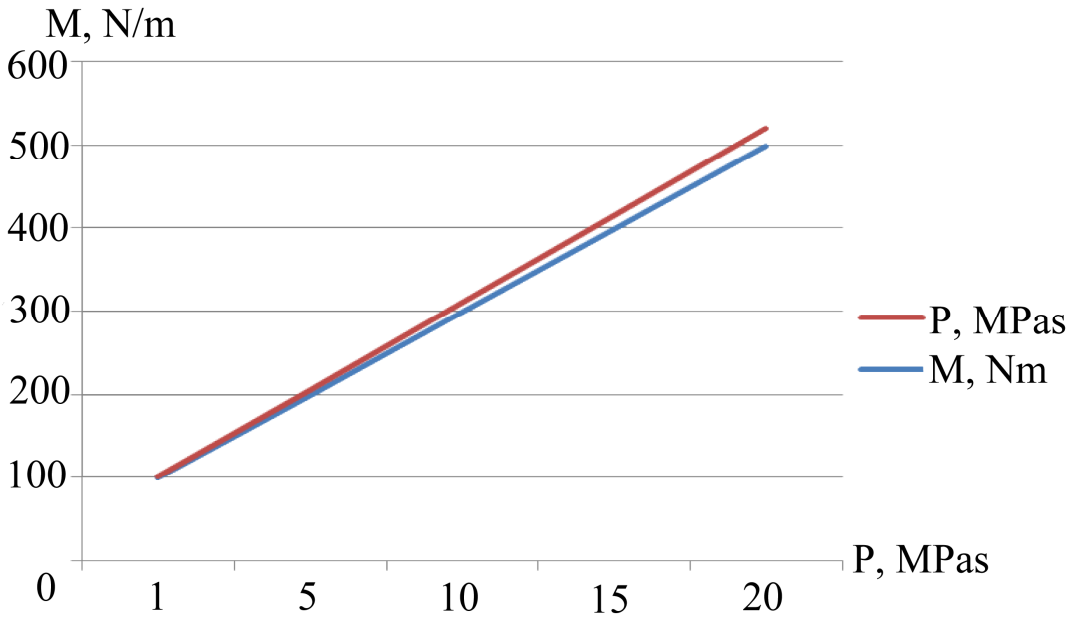


Figure 8. *Dependence of torque on pressure moment in the face*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Table 1. *The values of specific forces to giving and rotation of a mill*

The category of the ground $m_{free,}$ parameter, N/m²	***Specific force A, kN/m***	***Specific force B, kN/m***
1 category, $5 \cdot 10^4$	81,3	83,6
2 category, $10 \cdot 10^4$	136,1	121,0
3 category, $25 \cdot 10^4$	278,0	248,2
4 category, $50 \cdot 10^4$	525,1	420,1
5 category, $100 \cdot 10^4$	1088,8	912,0
6 category, $150 \cdot 10^4$	1612,8	1315,1

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

MODELAGEM MOLECULAR E AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES TÉRMICAS, CONDUTIMÉTRICAS E ESPECTRAIS DO ÁCIDO MALEICO PARA APLICAÇÃO EM SISTEMAS QUÍMICOS PROMISSORES

MOLECULAR MODELING AND EVALUATION OF THERMAL, CONDUTIMETRIC AND SPECTRUM PROPERTIES OF ACID MALEIC FOR APPLICATION IN PROMISSORY CHEMICAL SYSTEMS

LIMA, Francisco José Santos*; SILVA, Jean Lucas Carvalho da
e SILVA, Ademir Oliveira da

Universidade Federal do Rio Grande do Norte – Instituto de Química
Centro de Ciências Exatas e da Terra, Natal – RN, Brasil

** Autor correspondente*
e-mail:limafjs@yahoo.com

Received 12 November 2018; received in revised form 30 November 2018; accepted 14 December 2018

RESUMO

Neste trabalho foram investigadas as propriedades químicas do ácido maleico $C_4H_4O_4$, através da modelagem e parâmetros de reatividade molecular, medidas de pH e estudo do equilíbrio ácido-base pelo uso do programa RAÌZES 1.0, medidas de condutividade molar, análise térmica, espectros uv-visível e força do oscilador, para avaliar sua potencial viabilidade em formar sistemas químicos complexos promissores, capazes de transformar, via transferência intersistemas, radiações eletromagnéticas dispersas em sistemas emissores de luz seletiva ou conversores de radiação em eletricidade. Foi abservado que o contra-cátion deste ácido possui parâmetros de reatividade moleculares compatíveis para formação de ligações químicas estáveis com espécies metálicas receptoras de elétrons. Seu comportamento eletrolítico 2:1 revela que pode funcionar como quelante versátil, mono- e/ou bidentado, como também mono- e/ou bivalente na formação de com adutos complexos. Sua estabilidade térmica se estende até 100 ^oC, donde se decompõe quase totalmente até 400 ^oC sob atmosfera de N_2, finalizando com algum resíduo de carbono. Seus espectros mostram forte absorção na região do ultravioleta, com força do oscilador da ordem dos corantes orgânicos, propriedade que reflete uma investigação criteriosa na área da pesquisa e possível aplicação em sistemas químicos complexos promissores.

Palavras-chave: – *ácido maleico, espectroquímica, força do oscilador.*

ABSTRACT

In this work the chemical properties of the maleic acid C4H4O4 were investigated, through the modeling and molecular reactivity parameters, pH measurements and acid-base equilibrium study using the RAZES 1.0 program, molar conductivity measurements, thermal analysis, uv-visible spectra and oscillator strength to evaluate their potential viability in forming promising complex chemical systems capable of transforming, via inter-system transfer, dispersed electromagnetic radiation into selective light emitting systems or converters of radiation into electricity. It has been observed that the counter-cation of this acid has compatible molecular reactivity parameters for the formation of stable chemical bonds with metal receptors of electrons. Its 2: 1 electrolytic behavior reveals that it can function as a versatile, mono- and / or bidentate chelator, as well as mono- and / or bivalent chelator in the formation of complex adducts. Its thermal stability extends to 100 oC, where it decomposes almost totally to 400 oC under atmosphere of N2, ending with some carbon residue. Their spectra show strong absorption in the ultraviolet region, with the oscillator strength of the order of organic dyes, a property that reflects a careful investigation in the area of research and possible application in promising complex chemical systems.

Keywords: *maleic acid, spectrochemistry, oscillator strength.*

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INTRODUÇÃO

O ácido maleico é um sólido branco, de fórmula molecular $C_4H_4O_4$, comercializado na forma de pó, que recentemente tem sido usado na síntese de sistemas complexos, para a verificação das propriedades térmicas, condutimétricas e espectrais. Possui ponto de fusão entre 131-132 ºC e ponto de ebulição 135 ºC, donde se decompõe. Possui dois hidrogênios ionizáveis com pKa_1 = 1,92, pKa_2 = 6,27 e apresenta solubilidade em água de 78 g/100 mL a 25 ºC. Tem sido largamente utilizado na produção de resinas sintéticas e eletrólitos para capacitores (GREENWOOD, *et al*, 2006; MELO *et al*., 2007a; MELO *et al*., 2007b). A capacidade de seu contra-cátion em formar complexos, mono- e/ou bi-dentados, é um ponto forte para a formação de compostos e aumento de estabilidade de seus complexos em solução e no estado sólido. Suas propriedades físico-químicas apresentam a capacidade de influenciar favoravelmente as características a serem investigadas, e que apresenta interesse aplicativo em sistemas químicos termoestáveis e conversores de radiação.

Este estudo objetiva solucionar situações teóricas e experimentais referentes à síntese de compostos metálicos e a aplicação de técnicas analíticas já consolidadas e inovadas a cada sistema particular. As atividades experimentais deste trabalho justificam seu objetivo que tem como propósito de determiná-las para correlacionar com outros sistemas químicos similares.

METODOLOGIA

Parâmetros de reatividade teóricos foram obtidos a partir do programa WebLab ViewerPro© e da metodologia referenciada (MELO, 2007; WEBLAB, 1998). Os resultados estão mostrados nas Figuras 01 e Tabelas 01 e 02. Nas práticas experimentais foi utilizado ácido maleico comercial da Cromoline QF de pureza 99 %. Medidas de pH foram realizados em diferentes concentrações em um pHmetro TECNOPON mPA-210 de precisão ± 0,005 pH em temperatura ambiente de 25 ± 1 ºC e foi usado o programa RAÍZES 1.0 elaborado em linguagem QBASIC, para avaliar a concordância teórico-experimental dos resultados para este propósito (LIMA *et al*, 2017). As condutividades forram obtidas em um Condutivímetro MS-TECNPON mCa-150, precisão ±0,001 µS cm^{-1}. A análise térmica foi realizada em um equipamento TA-Instruments DSC/SDT Q600, a 10 ºC/min sob atmosfera de N_2, da temperatura ambiente até 890 ºC. Espectros uv-vis foram registrados em um equipamento UV-VIS SHIMADZU 1650 PC no intervalo de 190 – 900 nm, com absorbância ± 0,002 e λ ± 0,1 nm, de precisão, para uma solução aquosa $2{,}1 \times 10^{-4}$ mol/L. Os experimentos foram avaliados em temperatura ambiente de 25 ± 1 ºC.

RESULTADOS

Os dados obtidos através de programas de simulações, cálculos e pelos experimentos relatados estão descritos a seguir: A Figura 01 ilustra a modelagem molecular, parâmetros estruturais e eletrônicos do ácido maleico.

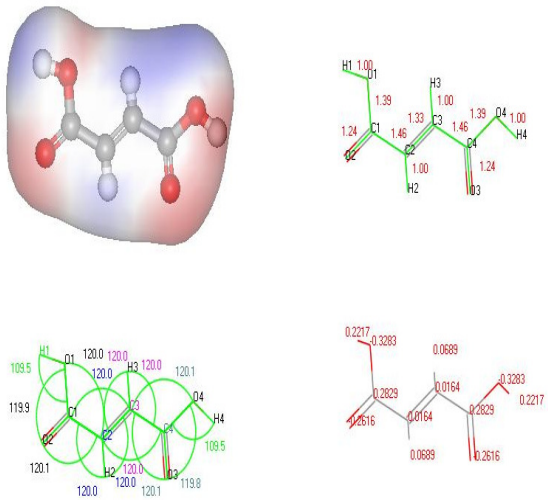


Figura 01 – Modelagem obtida para o ácido maleico através do programa WebLab ViewerPro©.

Na Tabela 01 estão descritos os valores de carga parcial para cada átomo na molécula neutra e no íon maleato (-1). É possível observar os elementos que apresentam densidades eletrônicas mais prováveis na molécula livre e no íon livre, capazes de promover uma ligação mais efetiva com espécies deficientes de elétrons, ácidos de Lewis, ou íons metálicos para a formação de sistemas químicos complexos promissores. Como esperado as maiores densidades eletrônicas estão mais distribuídas nos elementos mais eletronegativos das espécies.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Tabela 01 - Cargas parciais para o ácido maleico e o íon maleato (-1).

Carga Parcial		
	Ácido Maleico	**Íon Maleato (-1)**
H1	+0,2217	0
O1	-0,3283	-0,6347
C1	+0,2829	+0,2091
O2	-0,2616	-0,6347
C2	+0,0164	-0,0045
H2	+0,0689	+0,0669
C3	+0,0164	+0,0145
H3	+0,0689	+0,0688
C4	+0,2829	+0,2828
O3	-0,2616	-0,2616
O4	-0,3283	-0,3283
H4	+0,2217	+0,2217

Na Tabela 02 estão apresentados os cálculos referentes aos parâmetros de reatividade ℜ (LIMA *et al*., 2007).

Tabela 02 – PRM para o ácido maleico e o íon maleato (-1).

	Ácido Maleico		**Íon Maleato (-1)**	
	ℜe	ℜp	ℜe	ℜp
H1	–	+0,1879	–	0
O1	-0,2783	–	-0,3405	0
C1	–	+0,2398		+0,2421
O2	-0,2217	–	-0,3405	
C2	–	+0,2398	-0,0024	
H2	–	+0,0584		+0,3195
C3	–	+0,0139		+0,3508
H3	–	+0,0584		+0,0796
C4	–	+0,2398		+0,3274
O3	-0,2217	–	-0,1404	
O4	-0,2783	–	-0,1762	
H4	–	+0,1879		+0,2567

Na Tabela 03 estão apresentados os valores de pH experimentais medidos em diferentes concentrações e comparados com valores calculados do equilíbrio ácido-base pelo programa RAÌZES 1.0, donde foi utilizado os valores tabelados de pKa ou Ka, para estimar valores teóricos e avaliar a validade dos dados experimentais, conforme metodologia já testada em trabalho anterior (LIMA *et al*, 2017).

Tabela 03 – Dados calculados pelo uso do programa RAÌZES 1.0 e experimentais, para as soluções aquosas do ácido maleico em diferentes concentrações.

Mo mol/L	**$[H^+]_{calc}$ mol/L**	**pH_{calc}**	**pH_{exp}**	**$\lvert\Delta pH\rvert$ (cal-exp)**
$1,00x10^{-1}$	$2,92x10^{-2}$	1,54	1,81	0,27
$1,00x10^{-2}$	$6,49x10^{-3}$	2,19	2,57	0,38
$2,10x10^{-3}$	$1,82x10^{-3}$	2,74	3,02	0,28
$1,00x10^{-3}$	$9,28x10^{-4}$	3,03	3,25	0,22

(*) pH da H_2O = 6,8; valores experimentais médios medidos em triplicata.

A Tabela 04 apresenta valores de pH e condutividades medidos em temperatura ambiente de 25 ± 1 ºC, obtidos para a solução dos experimentos espectroquímicos. Os valores de condutância molar foram calculados à partir de $\Lambda_M = (k_{sol} - k_{solv}).10^3/M$, conforme suportado pela literatura pesquisada (GEARY, 1971; GUTTMAN, 1976; COSTA, *et al*., 2013; LIMA, *et al*., 2016).

Tabela 04 – Concentração, pH e condutividades do ácido maleico em solução aquosa.

	M mol L^{-1}	**pH**	**k S cm^{-1} x10^{-6}**	**Λ_M S cm^2 mol^{-1}**
H_2O	55,33	6,8	2,52	$4,55x10^{-5}$
$C_4H_4O_4$	$2,1x10^{-3}$	3,02	622,7	295,3

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

A Figura 02 mostra a curva de termodecomposição do $C_4H_4O_{4(s)}$ em atmosfera de N_2.

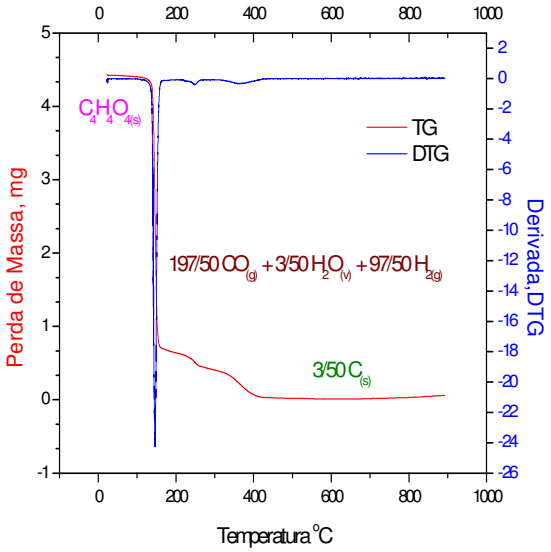


Figura 02 – Curva da termodecomposição do ácido maleico em atmosfera de N_2.

Na Tabela 05 está apresentada uma proposta de atribuição de conversão de reagentes em produtos.

Tabela 05 – Proposta de atribuição para a termodecomposição do ácido maleico em atmosfera de N_2(*).

$C_4H_4O_{4(s)} \rightarrow 197/50\ CO_{(g)} + 3/50\ H_2O_{(v)} + 97/50\ H_{2(g)} + 3/50\ C_{(s)}$

Amostra inicial		Produtos evolados	Resíduo
Massa	4,42960 mg	4,40055 mg	0,02905 mg
Exp	100,0 %	99,34 %	0,6558 %
Teór	100,0 %	99,40 %	0,6207%
Δ (T-E)	0,0 %	0,06 %	-0,0351 %

(*) Obs. Os percentuais teóricos estão associados a estequiometria proposta que foi atribuída a termodecomposição e os dados estequiométricos foram calculados para a decomposição de 1 mol de amostra.

A Figura 03 mostra o espectro uv-vis do ácido maleico em solução aquosa 2,1x10^{-4} mol/L.

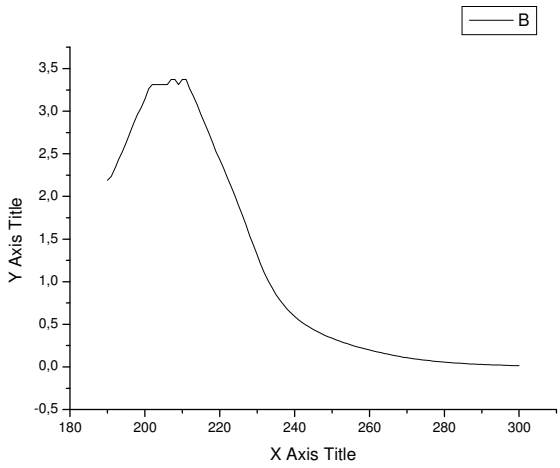


Figura 03 – Espectro uv-vis do ácido maleico

A Tabela 06 contém os dados espectrais obtidos. Utilizamos os métodos citados na literatura para o cálculo da área sob a curva do espectro de absorção e a força do oscilador (DRAGO, 1965; FIGGIS, 1966;, LIMA *et al.*, 2014; LIMA *et al.*, 2018)

Drago: $f = 4{,}6\text{x}10^{-9}.\int\varepsilon_{(\sigma)}d\sigma$

Figgs: $f = 4{,}32\text{x}10^{-9}.\int\varepsilon_{(\sigma)}d\sigma$

SIMP2FOS

$f = 4{,}319\text{x}10^{-9}.\ [9\eta/\ (\eta^2 + 2)^2].\int\varepsilon_{(\sigma)}d\sigma$

η = índice de refração = 1

Tabela 06 – Parâmetros espectrais do ácido maleico.

Método	**Intervalo (nm)**	**Área (cm^{-1}) X10^4**	**Força do Oscilador**
Gaussiana Drago	190-227	2,894	0,6339
Gaussiana Figgs	190-227	2,894	0.5953
SIMP2FOS	190-300	2,454	0,5049

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Os parâmetros de reatividade para a molécula isolada, mostraram que, no ânion monovalente em relação ao ácido, há um aumento de 93 % em termos da carga parcial e 22 % no valor de Re sobre o O1 da hidroxila – OH, para o primeiro hidrogênio ionizável, o que mostra sua viabilidade como contra-cátion monovalente, na formação de sistemas complexos com espécies metálicas, ácidos de Lewis ou receptores de elétrons. Em relação ao O2 ligado na carbonila C=O, o aumento relativo é maior ainda, em torno de 142 % em termos de carga parcial e 54 % em termos de Re, o que faz do grupo [O=CR-O$^-$] no íon molecular $C_4H_3O_4^-$, uma espécie doadora de elétrons de grande relevância para esta aplicação, podendo formar espécies mono- e bidentadas, assim como mono- e bivalentes pela perda de mais um hidrogênio ionizável.

O programa RAÌZES 1.0, elaborado em linguagem QBASIC, com o propósito de ser empregado como metodologia para averiguar a validade das medidas experimentais de pH obtidas em laboratório para diferentes sistemas, como também avaliar a consistência do equilíbrio ácido-base das soluções aquosas do ácido maleico, que revelou boa concordância entre os dados calculados e experimentais, como descrito na Tabela 03 (LIMA *et al*, 2017).

A condutância molar revelou que o ácido maleico é um eletrólito de comportamento 2:1 em solução aquosa, com condutância molar Λ_M = 295,3 S cm^2 mol^{-1}, segundo o estudo comparativo suportado por ampla literatura (GEARY, 1971; GUTTMAN, 1976; THOMPSON, 1979; HART, 1987; MELO, *et al*., 2009; COSTA *et al*., 2013).

O comportamento térmico sob atmosfera de N_2, apresentou termoestabilidade até 100 ºC, donde se inicia as primeiras perdas de massa, com uma decomposição térmica completa idealizada como;

$$C_4H_4O_{4(s)} \rightarrow 2CO_{(g)} + 2H_2O_{(g)} + 2C,$$
ou
$$C_4H_4O_{4(s)} \rightarrow 4CO_{(g)} + 2H_{2(g)},$$

pela ausência de oxigênio suficiente no composto, para a total oxidação da substância.

Na prática foi observado que a decomposição ocorreu em três etapas visíveis, sendo atribuída neste trabalho e compatíveis teoricamente com o processo global,

$$C_4H_4O_{4(s)} \rightarrow 197/50\ CO_{(g)} + 3/50\ H_2O_{(v)} + 97/50\ H_{2(g)} + 3/50\ C_{(s)},$$

ou,

$$C_4H_4O_{4(s)} \rightarrow 3{,}94\ CO_{(g)} + 0{,}06\ H_2O_{(v)} + 1{,}94\ H_{2(g)} + 0{,}06\ C_{(s)},$$

ou,

$$50\ C_4H_4O_{4(s)} \rightarrow 197\ CO_{(g)} + 3\ H_2O_{(v)} + 97\ H_{2(g)} + 3\ C_{(s)},$$

mostrado na Tabela 05, finalizando com um resíduo carbonífero, obtido a uma temperatura final de 436,1 ºC, que pode ser associado ao negro de fumo, um subproduto amorfo obtido da queima incompleta de compostos orgânicos, provavelmente não estequiométrico, polimérico, como também, possuir frações cristalinas de fulerenos, conhecidos como estruturas buckminster (LEE., 2000).

O espectro eletrônico (Figura 03) indica altas intensidades para as transições moleculares registradas, com valor de absorbância máxima de A_{max} = 3,3737 e absortividade molar ε_{max} = 16065 L mol^{-1} cm^{-1}, que ocorrem apenas na região do uv com forte absorção, sendo a transição principal, atribuída a um mecanismo permitido por dipolo elétrico do tipo n $\rightarrow \pi^*$ (DRAGO, 1965; SILVERSTEIN, *et al*., 1994; LIMA, *et al*., 1996; PAVIA, *et al*., 2010), revelando valores elevados para a força do oscilador, da ordem dos corantes orgânicos de aproximadamente 1 (KAUZMANN, 1957; PITZER, 1965; ADAMSON, 1986; LIMA, *et al*., 1996), mostrados na Tabela 06. Analisando os valores obtidos para a força do oscilados pelos métodos descritos para pré-avaliação e comparação, observa-se que são próximos, sendo o mais preciso o método elaborado pela "Regra de Simpson" que avalia mais criteriosamente a área sob curvas irregulares, e que foi realizado através do programa SIMP2FOS (LIMA, *et al*., 1996).

Apesar de o ácido maleico possuir espécies incolores em solução aquosa, estas absorvem fortemente na região do ultravioleta, o

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

que pode ser potencialmente aplicado em conversão radiativa por emissão de luz, através da transferência de energia inter-sistemas com outras espécies receptoras intramoleculares, usados na aplicação tecnológica em dispositivos eletro-eletrônicos.

AGRADECIMENTOS

A UFRN/PROPESQ/CNPq, pelo incentivo à pesquisa fundamental e ao IQ pelas análises térmicas e espectros uv-vis.

Este trabalho foi desenvolvido com o apoio do Projeto de Pesquisa PVB 11090-2014 - Síntese, Caracterização e Estudos Espectroquímicos de Maleatos de Lantanídeos com Aminóxidos Aromáticos, cadastrado na Pró-Reitoria de Pesquisa da UFRN.

REFERÊNCIAS

1. ADAMSON, A. W. 1986 – Physical Chemistry, Academic Press, Inc., Florida.
2. COSTA, L. H. M., LIMA, F. J. S. e SILVA, A. O., 2013 - Síntese, Complexometria, Análise Térmica e Condutância Molar dos Cloretos de Lantânio, Neodímio e Érbio Hidratados - Periódico TchêQuímica, 10(19), 38-45.
3. DRAGO, R. S., 1965 - Physical Methods in Inorganic Chemistry -, Vau Nostrand Reinhold Company, printed Holland.
4. FIGGIS, B. N., Introduction To Ligands Fields, 1966 – Interscience Publishers,
5. GEARY, W. J., 1971 - The Use Of Conductivity Measurements In Organic Solvents For The Characterization Of Coordination Compounds – Coord. Chem. Rev., 81-122.
6. GREENWOOD N, EARNSHAW A, 2006 - Chemistry of the Elements 2nd ed. Oxford: Butterworth-Heinemann.
7. GUTTMAN, V., 1976 - Empirical Parameters for Donor and Acceptor Properties of Solvents - Eletrochim. Acta. 21, 661-70.
8. HART, F. A.,1987 - Scandium, Yttrium and The Lanthanides - Comprehensive Coordination Chemistry - Ed. Sir Geoffrey Wilkinson, F. R. S. - 1a Ed., Vol. 3 - Main Group Early Transition Elements, Ch. 39, 1059-1127, Pergamon Press, 1a Ed., Oxford, England.
9. KAUZMANN, W. 1957 - Quantum Chemistry - Academic Press, Inc., New York.
10. LEE, J. D., 2000 - Quimica Inorganica Não Tao Concisa. Ed. Edgard Blucher LTDA, SP
11. LIMA, F. J. S., BRITO, H. F., SILVA, A. G., SILVA, A. O., BRAGA, C. C. M., LIMA, A. J. P., CARDOSO, M. C. C., 1996 - O Uso da Força do Oscilador na Avaliação de Intensidades Espectrais - Anais da Associação Brasileira de Química, 45 (1), 31-35.
12. LIMA, F. J. S.; MELO, R. M.; SILVA, A. O. e BRAGA, C. C. M., 2007 - Parâmetros de Reatividade Molecular – Periódico Tchêquímica, 4(7), 7-15.
13. LIMA, F. J. S. COSTA, L. H. M e SILVA, A. O., 2014 - Estudos Espectroquímicos do Íon UO_2^{2+} Coordenado no Acetato de Uranila - Periódico Tchêquímica, 11(22), 33-46.
14. LIMA, F. J. S, COSTA, L. H. M., AZEVEDO, D. M., SILVA, A. O., e CLAUDECE, F. P., 2016 - Parâmetros de Reatividade Molecular e a Correlação Com a Condutividade Molar da Quinolina-N-Óxido, Nicotinamida-N-Óxido e a 2,2-Dithiobispiridina-N-Óxido , Periódico Tchêquímica, 13(26), 88-96.
15. LIMA, S. G. M., LIMA, F. J. S., PEREIRA, F. C. e CRUZ, T. J. T., 2017 - Modelagem Molecular, Medidas Condutimétricas e Espectros Uv-Vis do Ácido Ascórbico Para Formação de Sistemas Químicos Complexos - Trabalho apresentado na CIENTEC – XXIII SEMANA DE CIÊNCIA, TECNOLOGIA E CULTURA, de 25 a 27 de outubro em Natal- RN.
16. LIMA, F. J. S., COSTA, L. H. M. da, SILVA, A. O. da, PEREIRA, F. C., 2018 - Espectroscopia de Absorção Molecular na Região do Uv-Vis Para os Ligantes Quinolina-N-Óxido, Nicotinamida-N-Óxido e 2,2-Dithiobispiridina-N-Óxido - Periódico Tchêquímica, 15(29), 164-170.
17. MELO, R. G. P.; MARTINS, C. Q. S.; MELO, R. M.; SILVA., A. L. C.; LIMA, F. J. S. e BRAGA., C. C. M, 2007a - Avaliação de Parâmetros de Reatividade Molecular Para os Isômeros Ácido Maleico e Fumárico, XLVII Congresso Brasileiro de Química - ABQ/RN, 17 a 21 de setembro.
18. MELO, R. M., LIMA, F. J. S., e SILVA, A. O.,

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

2007b - Estudo Térmico e Modelagem Molecular dos Maleatos de Lantanídeos Hidratados, XVIII Congresso de Iniciação Científica da UFRN – CIC, 02 a 05 de outubro.

19. MELO, R. M., LIMA, F. J. S., SILVA, A. O. e BRAGA, C. C. M., 2009 – Sintese e Caracterizacao dos Maleatos de Lantanio, Neodimio e Erbio. - Periodico Tche-Quimica, 06, 11, 31-42.
20. PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. e VYVYAN, J. R.; 2010 - Introdução à Espectroscopia; São Paulo: 4. Ed. Norte-americana.
21. PITZER, K. S., 1965 - Quantum Chemistry - Prentice-Hall, Inc. 7a Ed.
22. SILVERSTEIN, R. M., BASSLLER, G. C. and MORRILL, T. C. 1994, Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos, – 5a. Ed. Guanabara Koogan S.A
23. THOMPSON, L. C. 1979 - Complexes - Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths, V.3, Ch. 25, 209-97.
24. WEBLAB VIEWERPRO, Copyright © 1998, Molecular Simulations, Inc., Web Lab and ViewerPro are trademarks of Molecular Simulation Inc

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

We ask authors to always visit the online instructions for use of the latest instructions available. Manuscripts must be submitted using the template available on the Journal's website.

Preparation of Manuscripts

1. **Preparation of Manuscripts**
2. **The first page of the material**
3. **The main text part of the material**
4. **Guide lines for References**
5. **Figures**
6. **Tables**
7. **Mathematical expressions**
8. **Supplementary material**

1. Preparation of Manuscripts (template)

Please, observe the following points in preparing manuscripts. Papers not conforming closely to these instructions may be returned to their authors for appropriate revision or may be delayed in the review process.

Readability: Manuscripts should be written in clear, concise and grammatically correct English (British or American English throughout). The editors can not undertake wholesale revisions of poorly written papers. Every paper must be free of unnecessary jargon and clearly readable by any specialist of the related field. The abstract should be written in an explanatory style that will be comprehensible also to readers who are not experts in the subject matter.

General format: The complete paper has to be written preferably in Rich Text Format either in a MS-Word (Ms-Word 2003 or MS-Word 2007) or in a Br.Office (.odt) compatible file. Page size: A4, margins: 2 cm on each side, line spacing: single, font type: Arial. Please leave headers and footers unchanged, since it should be filled by the editors. Please check guidelines for an accurate information based on all different categories (review articles, technical notes, etc.) available. A single file of the whole manuscript should then be submitted through TQJ's email. The Journal no longer accepts submissions in any other form.

The order of the material should be as follows: Title, Author(s), Abstract, Keywords, Main text (Introduction, Review of Literature, Definitions (if any), Materials and Methods, Results, Discussion), Acknowledgements (if any), References, Appendix (if any). This structure of the main text is not obligatory, but the paper must be logically presented. Footnotes should be avoided. The main text must be written with font size 11, justify. Within each main section, three levels of subheadings are available and the titles must be with bold, bold and italic, italic respectively.

The manuscript should contain the whole text, figures, tables and explanations according to the followings (we suggest using the template file):

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

2. The first page of the material should be as follows:

Title: (both in Portuguese and English. The editors can provide the title in Portuguese for those who Portuguese is not the first language). Should be brief and informative. The title should reflect the most important aspects of the article, in a preferably concise form of not more than 100 characters and spaces. Font size 12, capital letters, center alignment.

By-line: Names (size 12, small capital) of the authors. No inclusion of scientific titles is necessary. In case of two or more authors, place their names in the same row, separate them with a semicolon (;) and please indicate the corresponding author with * in superscript. The corresponding author should be the one submitting the article on line and an e-mail given (only one e-mail) below the addresses of all authors. Authors from different institutions must be labelled with numbers in superscript after the names. Addresses of the authors, phone and fax number should be also given (size 10). Authors should be grouped by address.

Abstract: (both in Portuguese and English. The editors can provide the translation of the abstract to Portuguese for those who Portuguese is not the first language). Required for all manuscripts in which the problem, the principal results and conclusions are summarized. The abstract must be self-explanatory, preferably typed in one paragraph and limited to max. 200 words. It should not contain formulas, references or abbreviations. The word ABSTRACT should be written in capital letters, arial, size 12, bold, left alignment. The abstract should be written font arial, size 10, justify.

Keywords: (both in Portuguese and English. The editors can provide the keywords in Portuguese for those who Portuguese is not the first language). Keywords should not exceed five, not including items appearing in the title. The keywords should be supplied indicating the scope of the paper. Size 10, italic, justify, only the word Keywords must be bold, left alignment.

Authors should include Abbreviations and Nomenclature listings when necessary.

3. The main text part of the material should be as follows:

The words Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, Conclusion, Acknowledgements and References must be written in capital letters, arial, font size 12, left alignment, bold.

Introduction: The introduction must clearly state the problem, the reason for doing the work, the hypotheses or theoretical predictions under consideration and the essential background. It should not contain equations or mathematical notation. A brief survey of the relevant literature, so that a non-specialist reader could understand the significance of the presented results.

Materials and Methods: Provide sufficient details to permit repetition of the experimental work. The technical description of methods should be given when such methods are new.

Results and Discussion: Results should be presented concisely. Also, point out the significance of the results, and place the results in the context of other work and theoretical background.

Conclusion: Summarize the data discussed in the Results and Discussion showing the relevance of the work and how different it is from others researches. Also, point out the benefits and improvments that can be observed in order to develop new scientific stardards that can change something in the related field.

Acknowledgements: (if any) These should be placed in a separate paragraph at the end of the text, immediately before the list of references. It may include funding information too.

References: In the text references should be cited in Harvard style (Author, year). Alternatively, the author's surname may be integrated into the text, followed by the year of publication in

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

parentheses. Cite only essential resources, avoid citing unpublished material. References to papers "in press" must mean that the article has been accepted for publication. At the end of the paper list references alphabetically by the last name of the first author. Please, list only those references that are cited in the text and prepare this list as an automatically numbered list. The word References with size 12, bold, capital letters, left alignment.

4. Guide lines for References

Journals

Journal abbreviations should be used, as defined by the Chemical Abstracts Service Source Index (see http://www.cas.org/sent.html). If the official short form can not be determined and it is not obvious how to abbreviate the title, the full journal title should be given.

1. Varma, R. S.; Singh, A. P.; *J. Indian Chem. Soc*. **1990**, 67, 518.

If the journal can not be easily accessed, its Chemical Abstracts number should be given, as follows:

2. Provstyanoi, M. V.; Logachev, E. V.; Kochergin, P. M.; Beilis, Y. *I.; Izv. Vyssh. Uchebn. Zadev.; Khim. Khim. Tekhnol.* **1976**, 19, 708. (CA 85:78051s).

If the article has a DOI number but its complete reference is not given, the DOI number should be cited as follows:

3. Vidotti, M.; Silva, M. R.; Salvador, R. P.; de Torresi, S. I. C.; Dall'Antonia, L. H.; *Electrochimica Acta* (2007), doi:10.1016/j.electacta.2007.11.029.

It is recommended to give composite references instead of a list of separate references. The style of composite references is as follows:

4. Varela, H.; Torresi, R. M.; *J. Electrochem. Soc*. **2000**, 147, 665; Lemos, T. L. G.; Andrade, C. H. S.; Guimarães, A. M.; Wolter-Filho, W.; Braz-Filho, R.; *J. Braz. Chem. Soc*. **1996**, 7, 123; Ângelo, A. C. D.; de Souza, A.; Morgon, N. H.; Sambrano, J. R.; *Quim. Nova* **2001**, 24, 473.

Patents

Patents should be identified as follows (if possible, the Chemical Abstracts number should be given in parentheses):

5. Hashiba, I.; Ando, Y.; Kawakami, I.; Sakota, R.; Nagano, K.; Mori, T.; *Jpn. Kokai Tokkyo Koho 79 73,771* **1979**. (*CA 91:P193174v*)

6. Kadin, S.B.; *US pat. 4,730,004* **1988**. (*CA 110:P23729y*)

7. Eberlin, M. N.; Mendes, M. A.; Sparrapan, R.; Kotiaho, T. *Br PI 9.604.468-3*, **1999**.

Books

with editors

8. Regitz, M. *Multiple Bonds and Low Coordination in Phosphorus Chemistry*; Regitz, M.; Scherer, O. J., eds.; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, 1990, cap. 2.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

without editors

9. Cotton, F.A.: Wilkinson, G.; *Advanced Inorganic Chemistry*, 5th ed., Wiley: New York, 1988.

Computer programs (software)

10. Sheldrick, G. M.; *SHELXL-93; Program for Crystal Structure Refinement*; University of Göttingen, Germany, 1993.

Theses

11. Velandia, J. R.; *PhD thesis*, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Brazil, 1997.

Presentations at meetings

12. Ferreira, A. B; Brito, S. L.; Abstracts, *20th Annual Meeting of the Brazilian Chemical Society*, Poços de Caldas, Brazil, 1998.

Internet pages

13. http://www.sbq.org.br/jbcs, accessed June 2001.

Unpublished material

For articles accepted for publication: Magalhães, U. H.; *J. Braz. Chem. Soc.,* in press.

For articles submitted but not yet accepted: Magalhães, U. H.; *J. Braz. Chem. Soc*., submitted.

For unpublished articles or personal communications: Magalhães, U. H.; unpublished or Magalhães, U. H.; personal communication.

Unpublished results must only be cited with explicit permission from those who obtained them.

Whenever possible, authors should follow IUPAC recommendations (for all papers using chemical nomenclature) and use the International System of Units.

5. Figures:

The number of figures (including graphs, diagrams, etc.) should not exceed 10 and should be submitted either in JPG or PNG formats. All photographs, graphs and diagrams should be numbered consecutively (e.g. Figure 1) in the order in which they are referred in the text. Caption must appear below the figure (size 11, bold, italic) and should be sufficiently detailed to enable to understand apart from the text. Explanation of lettering and symbols should be given also in the caption and only exceptionally in the figures. Figures should be of good quality and preferably in black and white. (Color figures will appear in the downloadable files, but all papers will be printed in black and white.) Scanned figures should be at a resolution of 800 dpi/bitmap for line graphs. Diagrams containing chemical structures should be of high graphical quality and always be of the same size, so that they can be uniformly reduced. Figures should have a maximum width of one Journal column (8.5 cm) to be inserted on body of the text so that they can be applied to the standards of the Journal. If the figures exceed 8.5 cm, they will be placed at the end of the article. In addition, authors may be requested to submit each figure also as an image file in one of the following formats: jpg or png. For figures, graphs, diagrams, tables, etc., identical to material already published in the literature, authors should seek permission for publication from the companies or scientific societies holding the copyrights and send it to the editors of TQ along with the final form of the manuscript.

6. Tables:

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil

Tables should be self-explanatory. They should be mentioned in the text, numbered consecutively (e.g. Table 1) and accompanied by title at the top (size 11, bold, italic). Please insert all the tables in the text, do not enclose huge tables which can not be fit within the page margins.

7. Mathematical expressions:

In general, minimize unusual typographical requirements, use solidus, built-up fractions. Avoid lengthy equations that will take several lines (possibly by defining terms of the equation in separate displays). For drawing equations please use the Equation Editor of Word, if possible. Make subscripts and superscripts clear. Display only those mathematical expressions that must be numbered for later reference or that need to be emphasized. Number displayed equations consecutively throughout the paper. The numbers should be placed in parentheses to the right of the equation e.g. (Eq. 1).

Supplementary material:

Any Supplementary material (extra figures, tables, diagrams, etc.) should be placed at the end of the manuscript and clearly indicated as such. A single .PDF - document, including the supplementary material, should be submitted.

Editors, at any time of the editing process, may ask authors to split off part of the manuscript, presenting it as supplementary material.

© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil



https://www.facebook.com/tchequimica/



http://www.tchequimica.com/



© 2019. Porto Alegre, RS. Brasil