

## Influência de antioxidantes no crescimento microbiano em biodiesel comercial

Sabrina Anderson Beker (DEMIP/UFRGS, [sabrinabeker@gmail.com](mailto:sabrinabeker@gmail.com)), Eduardo Homem de Siqueira Cavalcanti (LACOR/INT, [eduardo.cavalcanti@int.gov.br](mailto:eduardo.cavalcanti@int.gov.br)), Fátima Menezes Bento (DEMIP/UFRGS, [fatima.bento@ufrgs.br](mailto:fatima.bento@ufrgs.br)).

**Palavras Chave:** Biodiesel, contaminação microbiana, biodeterioração, antioxidantes.

### 1 - Introdução

O biodiesel apresenta em sua composição ésteres (metílicos ou etílicos) de ácido graxos, de origem vegetal ou animal, produzidos através da reação química mundialmente conhecido como transesterificação<sup>1</sup>. Dentre as matérias-primas mais utilizadas para sua produção, o grão de soja tem sido destaque, sendo o mais utilizado na produção do biodiesel nacional.

O armazenamento é um dos pontos críticos da sustentabilidade da cadeia do biocombustível e deve ser monitorado e avaliado para garantia do produto. O fator mais importante que contribui para sua vulnerabilidade é a sua baixa estabilidade química<sup>2</sup>. Quanto aos processos oxidativos do biodiesel, estes podem ser minimizados pela adição de antioxidantes, os quais desempenham papel fundamental na prevenção da iniciação e propagação da oxidação deste produto.

Além da preocupação envolvendo a estabilidade química do biodiesel, outro fator que preocupa, é o fato do biodiesel ser facilmente reconhecido como uma fonte de carbono prontamente assimilável pelos micro-organismos, o que pode produzir sob determinadas condições, além da suscetibilidade à oxidação, uma maior suscetibilidade a biodegradação<sup>3-5</sup>.

A presença de água e de micro-organismos torna-se o princípio da formação de uma massa biológica na interface combustível/água devido à presença de micro-organismos deteriorogênicos que possuem a capacidade de degradar as cadeias carbônicas do biodiesel<sup>3</sup>. Medidas físicas como drenagem da água e limpeza dos tanques podem ser tomadas a fim de reduzir a possibilidade de desenvolvimento de sedimentos de origem biológica durante a estocagem. Além disso, pode-se fazer uso de agentes químicos com atividade antimicrobiana (biocidas) para prevenir a presença de micro-organismos. Porém, esta medida química não é permitida legalmente no Brasil.

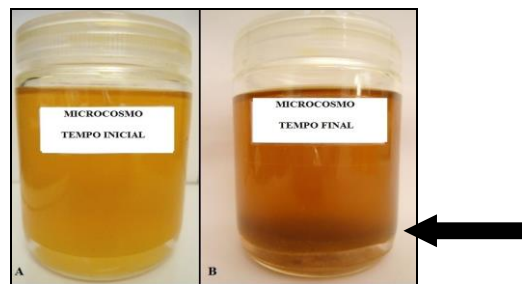
Neste sentido, o objetivo do presente estudo foi investigar se o antioxidante utilizado no biodiesel comercial pode promover ou inibir o crescimento microbiano durante armazenamento simulado.

### 2 - Material e Métodos

O biodiesel metílico de soja utilizado neste experimento foi avaliado puro (sem antioxidante) e comercial (com antioxidante sintético de estrutura fenólica). Ambos biodieseis ficaram armazenados em recipientes de aço por 1 mês antes do início dos testes de suscetibilidade à contaminação microbiana com o intuito de considerar o cenário real onde o biodiesel pode permanecer armazenado por um período de 30 dias até a entrega às distribuidoras. Após, foram montados

microcosmos (frascos de vidro) com capacidade para 150 mL, contendo 130 mL de biodiesel de soja puro e comercial como recebido da usina e 13 mL de meio mineral mínimo Bushnell Haas com pH inicial de 7,0. Foi adicionado a cada microcosmo o inóculo de fungo filamentosso deteriorogênico de diesel e biodiesel *Aspergillus niger* na concentração final de  $10^5$  esporos  $\text{mL}^{-1}$ , exceto nos frascos controle estéreis. Os microcosmos foram incubados sem agitação a 30°C por 60 dias em triplicata (Figura 1).

Foram realizadas análises na **fase aquosa**: contagem microbiana pela técnica de laminocultivos contendo meio *Plate Count Agar* (PCA) e medidas de pH, e na **interface**: peso seco da biomassa (técnica gravimétrica).



**Figura 1.** Aspecto dos microcosmos no tempo inicial (A) e final (B), com destaque (seta) para a biomassa formada na interface óleo-água.

### 3 - Resultados e Discussão

A estimativa de bactérias na fase aquosa do biodiesel como recebido nas duas condições é apresentada na Figura 2. No tempo zero, ambos biodieseis não apresentaram contaminação microbiana. Após a fase de adaptação, onde não foi observado crescimento, observou-se uma fase de crescimento exponencial onde a partir do 3º e 10º dia o biodiesel puro e comercial, respectivamente, apresentou densidade microbiana de  $10^5$  e  $10^3$  UFC  $\text{mL}^{-1}$ . Ao final, a condição do biodiesel comercial como recebido apresentou a maior densidade de UFC ( $10^4$ ) e também o maior valor de biomassa (175 mg). Os microcosmos que tiveram a adição do inóculo do fungo também apresentaram comportamento microbiano semelhante (Figura 3). Inicialmente, todos contavam com  $10^5$  UFC  $\text{mL}^{-1}$ , após o 2º dia a contagem aumentou 1 log o qual manteve-se até o 15º dia. A partir do 20º dia, a contagem decresceu e aos 60 dias o biodiesel puro com inóculo atingiu  $10^2$  UFC  $\text{mL}^{-1}$ , enquanto o biodiesel comercial na mesma condição apresentou contagem igual a 0.

No tempo final, a biomassa foi maior na condição do biodiesel comercial com inóculo ( $265 \pm 20,0$  mg) seguido do biodiesel comercial como recebido ( $175 \pm 10,5$

mg). A população de bactérias reduziu em todas as amostras, provavelmente devido a limitação encontrada pela falta de nutrientes, consumo de O<sub>2</sub> e redução de pH nos microcosmos ao final do experimento.

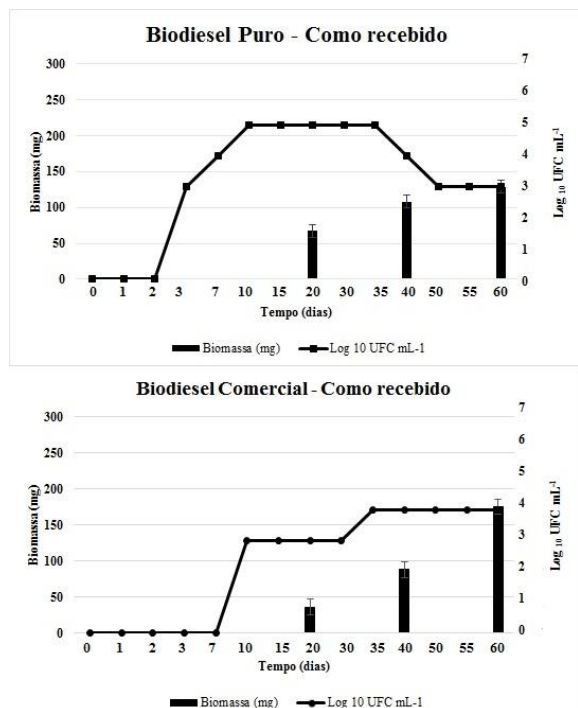


Figura 2. Contagem microbiana e medida de biomassa (mg) de biodiesel puro e comercial como recebido.

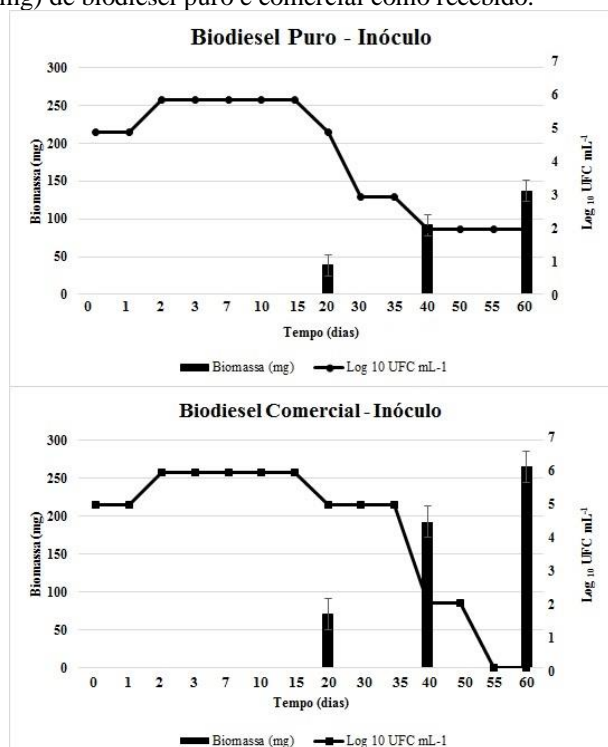


Figura 3. Contagem microbiana e medida de biomassa (mg) de biodiesel puro e comercial com adição de inóculo.

A fase aquosa apresentou uma redução significativa nos valores de pH ao longo do experimento (Tabela 1).

Tabela 1. Valores das medidas de pH da fase aquosa durante 60 dias.

| Biodiesel           | Valores de pH |         |         |         |
|---------------------|---------------|---------|---------|---------|
|                     | Tempo (dias)  |         |         |         |
| Puro                | 0             | 20      | 40      | 60      |
| Como Recebido       | 7,0±0,0       | 4,8±0,8 | 5,2±0,8 | 4,7±0,3 |
| Com <i>A. niger</i> | 7,0±0,0       | 5,2±0,8 | 4,5±0,4 | 4,0±0,0 |
| Controle Estéril    | 7,0±0,0       | 6,0±0,0 | 6,0±0,0 | 6,0±0,0 |
| Comercial           |               |         |         |         |
| Como Recebido       | 7,0±0,0       | 5,3±0,2 | 5,2±0,8 | 4,7±0,5 |
| Com <i>A. niger</i> | 7,0±0,0       | 4,0±0,7 | 4,0±1,0 | 3,2±0,2 |
| Controle Estéril    | 7,0±0,0       | 6,0±0,0 | 6,0±0,0 | 6,0±0,0 |

As fases aquosas que mantiveram contato com biodiesel puro e comercial apresentaram um valor de pH de 4,7 após 60 dias de incubação. A fase aquosa do biodiesel comercial com a adição do inóculo apresentou o menor valor de pH (3,2), seguida da amostra de biodiesel puro com a adição do inóculo (4,0). As amostras controles estéreis apresentaram um valor de pH de 6,0 ao final do experimento. Houve uma redução nos valores de pH provavelmente devido à liberação de ácidos oriundos do metabolismo microbiano, uma vez que foi observado desenvolvimento de micro-organismos ao longo da avaliação (Figuras 1 e 2). Além disso, o biodiesel, quando em contato a água, sofre hidrólise que por sua vez também reduz o pH do meio aquoso, conforme observado no controle estéril.

#### 4 – Conclusões

Nas condições estabelecidas do experimento, foi observado uma maior formação de biomassa no biodiesel comercial (com antioxidante) quando comparado ao biodiesel puro (sem antioxidante), sugerindo que o antioxidante apresentou efeito no crescimento microbiano durante armazenamento simulado.

#### 5 – Agradecimentos

LAB-BIO/UFRGS, FINEP (385697/2014-7), INT/RJ, CNPq Edital 40 e MCTI/SETEC.

#### 6 - Bibliografia

- Subramaniam, D.; Murugesan, A.; Avinash, A.; Kumaravel, A.; *Renew. Sust. Energ. Rev.* **2013**, 22, 361.
- Fattah, I.M.R.; Masjuki, H.H.; Kalam, M.A.; Hazrat, M.A.; Masum, B.M.; Imtenan, S.; Ashraful, A.M.; *Renew. Sust. Energ. Rev.* **2014**, 30, 356.
- Passman, F.J.; *Int. Biodeterior. Biodegr.* **2013**, 81, 88.
- Bücker, F.; Barbosa, C.S.; Quadros, P.D.; Bueno, M.K.; Fiori, P.; Huang, C.; Frazzon, A.P.G.; Ferrão, M.F.; Camargo, F.A.O.; Bento, F.M.; *Int. Biodeterior. Biodegr.* **2014**, 95, 346.
- Beker, S.A.; Silva, Y.P.; Bücker, F.; Cazarolli, J.C.; Quadros, P.D.; Peralba, M.C.R.; Piatnicki, C.M.S.; Bento, F.M.; *Fuel* **2016**, 184, 701.