



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E
MICROBIOLÓGICA DO DIESEL, BIODIESEL E
SUAS MISTURAS DURANTE A LOGÍSTICA
DE DISTRIBUIÇÃO**

Rebeca Tibau Aguiar



João Pessoa - PB - Brasil

Fevereiro/2013



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

AVALIAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DO DIESEL, BIODIESEL E SUAS MISTURAS DURANTE A LOGÍSTICA DE DISTRIBUIÇÃO

Rebeca Tibau Aguiar*

Dissertação apresentada como
requisito para obtenção do
título de Mestre em Química
pela Universidade Federal da
Paraíba.

Orientador: Prof. Dr. Raul Rosenhaim

2ª Orientadora: Dra. Evaneide Ferreira Silva Medeiros Ramalho

*Bolsista CAPES

João Pessoa - PB - Brasil

Fevereiro/2013

A282a Aguiar, Rebeca Tibau

Avaliação física, química e microbiológica do diesel, biodiesel e suas misturas durante a logística de distribuição / Rebeca Tibau Aguiar.-- João Pessoa, 2013.

75f. : il.

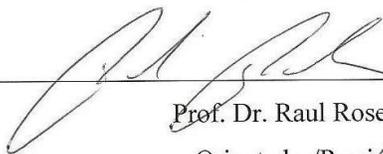
Orientadores: Raul Rosenhaim, Evaneide Ferreira Silva Medeiros Ramalho

Dissertação (Mestrado) – UFPB/CCEN

1. Química. 2. Biodiesel. 3. Diesel. 4. Parâmetros físicos e químicos. 5. Análise térmica. 6. Estabilidade oxidativa.

**Caracterização física, química e microbiológica do diesel,
biodiesel e suas misturas durante a logística de distribuição**

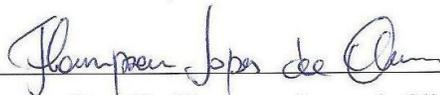
Dissertação de Mestrado de Rebeca Tibau Aguiar aprovada pela banca
examinadora em 18 de fevereiro de 2013:



Prof. Dr. Raul Rosenhaim
Orientador/Presidente



Dra. Evaneide Ferreira Silva Medeiros Ramalho
2ª. Orientadora



Prof. Dr. Thompson Lopes de Oliveira
Examinador



Profa. Dra. Liliana de Fátima Bezerra Lira de Pontes
Examinadora

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus que foi o idealizador de todos os caminhos e decisões tomadas.

Aos meus pais, pelo amor, dedicação, atenção e solidariedade nos momentos de mais dificuldade em que nada parecia dar certo e também nas alegrias dos churrascos de fim de semana que promove a união de nossa família.

Ao Eduardo, por a todo tempo estar me mandando forças, me ajudando e limpando minhas lágrimas de desespero, além de seu amor que tanto me conforta.

Aos meus amigos, pelo desde o simples “boa sorte” e “tudo vai dar certo” até os grandes mistões.

AGRADECIMENTOS

Agradeço infinitamente a Deus por todos os dias de vida, de luta, de força, de amor e por cada passo dado com maravilhas, mas que não mereço.

Obrigada aos meus pais, meu irmão e meus cachorros pelo amor, brigas, carinho, churrascos, brincadeiras, suporte e conforto que me proporcionam a todo instante.

Ao meu queridíssimo companheiro de conversas, confidências, fofocas, carinho, força, apoio, beijinhos e do meu psicólogo de plantão, Eduardo. E aos pensamentos críticos de Fabrício.

Aos meus prezados orientadores Evaneide, Raul, Gouveia e Ieda que em todo momento estiveram dando ideias, o suporte necessário para o andamento deste trabalho e pelas descontrações, assim como a contribuição de Márcia para este trabalho.

A Liliana, Thompson e Ilda pelas sugestões, correções e toda atenção dada para que este trabalho tenha o melhor embasamento científico possível.

A Thompson, Joyce, Geilly e Iago que estiveram sempre dispostos a colocar a ideia deste projeto para frente me ajudando na bancada e nos estudos.

A todos do LACOM, como Andrea, Pedro, Ielena, Marco Aurélio, Anderson, Maristela, Iago, Kiko, Tiago e Abraão pelos almoços mais descontraídos do mundo e aos mistões sempre aguardados, pelas dificuldades psicossociais de se viver em grupo diariamente e pelas ideias de se fazer um bocado de artigo sem ter tempo para respirar. Mas quem sabe um dia?

Ao prof. Zé Rodrigues pelo qual tenho uma dívida eterna de gratidão por meu entendimento como química e pelas dúvidas (sempre um milhão delas) que ele ia lá e matava.

Também agradeço a Clediana, Camyla, Hemmi, Nataly, Marileide, Dalva, Bidu, Vidianne, Geilly, Hévila, Everton, Ana Flávia, prof. Ary, profa. Neide, profa. Antônia, Vanderlucy, Aline Kelly, Poliana, Cristiano, Aline Sousa, Alony, D. Luordinha, Marco Pequeno, ... Todos que de alguma forma vivenciaram momentos comigo no LACOM.

Meu beijo fofo para minhas amigas do colégio.

*“O coração do homem pode fazer planos,
mas a resposta certa vem dos lábios do Senhor.
Todos os caminhos dos homens são puros aos seus olhos,
mas o Senhor pesa o espírito.
Confia ao Senhor as tuas obras
e os teus desígnios serão estabelecidos.”*

Provérbios 16: 1-3

TÍTULO: Avaliação Física, Química e Microbiológica do Diesel, Biodiesel e Suas Misturas Durante a Logística de Distribuição

AUTORA: Rebeca Tibau Aguiar

ORIENTADORES: Prof. Dr. Raul Rosenhaim

Dra. Evaneide Ferreira Silva Medeiros Ramalho

RESUMO

Reações de degradação química e microbiológica em combustíveis tendem a formar sedimentos e borras nos tanques de armazenamento e diminuir a qualidade destes quando utilizados nos veículos automotores. Estes produtos de degradação podem promover entupimentos das válvulas de atomização, por exemplo. Este trabalho teve como objetivos verificar a presença de sedimentos e borras em fundos de tanque de armazenamento de diesel, biodiesel e suas misturas, caracterizá-los físico-química e microbiologicamente, além de avaliar se estas alterações estão sendo repassadas para as respectivas bombas de abastecimento. Os locais de coleta destas amostras foram usina experimental de produção de biodiesel, distribuidora e postos de combustíveis. Observou-se que as amostras de diesel e biodiesel analisadas estavam em conformidade com os parâmetros estabelecidos pela Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), exceto para algumas propriedades dos biodieseis produzido na usina experimental. A estabilidade oxidativa por PetroOXY do diesel puro (DB0 500) apresentou valor superior ao B5 S500 > B5 S50 e estes superiores aos biodieseis. Comportamento contrário foi observado na análise térmica por termogravimetria (TG). As amostras do fundo do tanque e das bombas de abastecimento da usina e dos postos apresentaram crescimento microbiológico de *Candida tropicalis*, *Aspergillus fumigatus* e *Klebsiella sp.*. Estes microrganismos promoveram formação de sedimentos, interface óleo-água e emulsão destas amostras em contato com o caldo de sabouraud dextrose. Os dieseis, biodieseis e suas misturas, tanto da bomba de abastecimento quanto do fundo dos tanques de armazenamento apresentaram composições químicas similares quando analisadas por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG-EM) e absorção na região de infravermelho (IV) e não sofreram alterações devido à presença dos microrganismos existentes.

PALAVRAS-CHAVE: Biodiesel. Diesel. Parâmetros físicos e químicos. Microrganismos. Análise térmica. Estabilidade oxidativa.

TITLE: Physical, Chemical and Microbiological Evaluation of Diesel, Biodiesel and Their Mixtures During the Distribution Logistic

AUTHORESS: Rebeca Tibau Aguiar

ADVISORS: Prof. Dr. Raul Rosenhaim

Dra. Evaneide Ferreira Silva Medeiros Ramalho

ABSTRACT

Chemical and microbiological degradation reactions in fuels tend to form sediments and sludge in storage tanks and decrease their qualities when applied in vehicles. These degradation products can promote blockages of the atomization valves, for example. This work aimed to verify if there were sediments and sludge formations in the bottom of storage tanks of diesel, biodiesel and their mixtures, characterize physical, chemical and microbial properties of these samples and evaluate if these possible alterations have been passed to their respective supply pump. The collect places were a biodiesel experimental plant, fuel distributor and stations. There were observed that the diesel and biodiesel samples were in accordance with the established by National Agency of Petroleum, Natural Gas and Biofuels (ANP), except for some biodiesel properties from its plant. The oxidative stability by PetroOXY test of the pure diesel (DB0 S500) was greater than B5 S500 > B5 S50 and these are bigger than for biodiesels. The bottom storage tank and the supply pump samples from the plant and the fuel stations showed *Candida tropicalis*, *Aspergillus fumigatus* e *Klebsiella sp.* growth. These microorganisms promoted sediment, oil-water interface and emulsion formations when they were inoculated in sabouraud dextrose broth. The diesel, biodiesel and their mixtures, as the pump as the bottom tank samples, have similar chemical composition when analyzed by gas chromatography coupled with mass spectrometer (GC-MS) and absorption in the infrared (IR) region and they have not been suffered alterations due to the presence of the existent microorganisms.

KEY WORDS: Biodiesel. Diesel. Physical and chemical parameters. Microorganisms. Thermal analysis. Oxidative stability.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 - Logística de abastecimento do biodiesel no Brasil.....	19
Figura 3.1 - Mecanismo proposto para formação de insolúveis no diesel.....	28
Figura 3.2 – Mecanismo proposto para reação de auto-oxidação de ésteres.....	29
Figura 4.1 - Esquema de coleta das amostras.....	34
Figura 4.2 - Esquema do teste de oxidação acelerada por Rancimat.....	39
Figura 4.3 - Esquema do método de oxidação acelerada por PetroOxy.....	40
Figura 5.1 – Espectros na região de infravermelho das amostras de biodiesel coletadas na usina e na distribuidora.....	45
Figura 5.2 – Espectros na região de infravermelho das amostras de diesel coletadas na distribuidora e nos postos.....	46
Figura 5.3 – Aspecto e cor das amostras de biodiesel da usina. Da esquerda para a direita: UFT B100, UBiB100 e UBC B100.....	47
Figura 5.4 - Aspecto e cor das amostras da distribuidora. Da esquerda para a direita: DB100 e DB0 S500.....	48
Figura 5.5 – Aspecto e cor das amostras FT B5 S500 e BC B5 S500, da esquerda para direita.....	48
Figura 5.6 – Aspecto e cor de FT B5 S50 e BC B5 S50, da esquerda para a direita.....	49
Figura 5.7 – Curvas de oxidação acelerada por Rancimat para biodiesel.....	55
Figura 5.8 – Curvas de oxidação acelerada por PetroOXY para biodiesel.....	57
Figura 5.9 - Curvas de oxidação acelerada por PetroOXY para diesel.....	57
Figura 5.10 – Curvas termogravimétricas para as amostras de biodiesel.....	59
Figura 5.11 – Degradação térmica para as amostras de diesel.....	59
Figura 5.12 - Crescimento das colônias de UFT B100 em (a) 7 dias, (b) 15 dias e (c) 30 dias.....	61
Figura 5.13 – Crescimento em FT B5 S500 da colônia em (a) 15 dias e (b) 30 dias.....	61
Figura 5.14 - Tubos de ensaio com as amostras (a) UBC B100, (b) UFT B100, (c) BC B5 S500, (d) FT B5 S500, (e) BC B5 S50 e (f) FT B5 S50.....	62
Figura 5.15 – Isolamento e identificação dos microrganismos de (a) UBC B100, (b) UFT B100, (c) BC B5 S500, (d) FT B5 S500, (e) BC B5 S50 e (f) FT B5 S50.....	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 - Características dos locais de coleta de amostras.....	35
Tabela 5.1 - Composição dos ésteres das amostras coletadas na usina de biodiesel e na distribuidora de combustíveis.....	44
Tabela 5.2 - Parâmetros físicos e químicos para as amostras de diesel e biodiesel.....	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT = Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANP = Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
ASTM = American Society for Testing and Materials
B0 = diesel puro
B100 = biodiesel puro
B2 = Mistura de 2% de biodiesel e 98% de diesel
B5 = Mistura de 5% de biodiesel e 95% de diesel
B7 = Mistura de 7% de biodiesel e 93% de diesel
BC B5 S50 = Bomba de Combustível de B5 com 50 ppm de enxofre
BC B5 S500 = Bomba de Combustível de B5 com 500 ppm de enxofre
Bi = Bico
Bo = Bomba
BX = Mistura de X% de biodiesel a (100-X) % de diesel
CG-EM = Cromatografia Gasosa acoplado a Espectrômetro de Massa
CONAMA = Conselho Nacional do Meio Ambiente
D = Distribuidora
DB0 S500 = Distribuidora Diesel Puro com 500 ppm de enxofre
DB100 = Distribuidora Biodiesel
Diesel S10 = Diesel com 10 ppm de enxofre
Diesel S50 = Diesel com 50 ppm de enxofre
Diesel S500 = Diesel com 500 ppm de enxofre
DTA = Análise Térmica Diferencial
EN = European Standard
ET = Enxofre Total
FT B5 S50 = Fundo de Tanque de B5 com 50 ppm de enxofre
FT B5 S500 = Fundo de Tanque de B5 com 500 ppm de enxofre
Fu = Fundo do tanque de armazenamento
IA = Índice de Acidez
IV = Infravermelho
Lub = Lubricidade
máx. = máximo

ME = Massa Específica

NBR = Norma Brasileira

ND = Não Detectado

PB = Paraíba

PEFF = Ponto de Entupimento de Filtro a Frio

PF = Ponto de Fluidez

PI = Período de Indução

PN = Ponto de Névoa

PROCONVE = Programa de Controle da Poluição do Ar por Veículos Automotores

TB = Teor de Biodiesel

TG = Termogravimetria

U = Usina de biodiesel

UBC B100 = Usina Bomba de Combustível de Biodiesel

UBiB100 = Usina Bico do Reator de Pós Lavagem de Biodiesel

UFT B100 = Usina Fundo de Tanque de Biodiesel

VC = Viscosidade Cinemática

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVOS	21
2.1	Objetivos gerais	21
2.2	Objetivos específicos.....	21
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	24
3.1	Diesel.....	24
3.2	Biodiesel	26
3.3	Degradação do diesel e biodiesel	27
3.4	Degradação Microbiológica em Combustíveis.....	29
4	METODOLOGIA	34
4.1	Coleta das Amostras	34
4.1.1	<i>Dados sobre os locais de coleta</i>	34
4.2	Caracterizações físicas, químicas, térmicas e oxidativas	35
4.2.1	<i>Composição dos ésteres</i>	35
4.2.2	<i>Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho</i>	36
4.2.3	<i>Aspecto e Cor</i>	36
4.2.4	<i>Índice de Acidez (IA)</i>	36
4.2.5	<i>Ponto de névoa (PN)</i>	36
4.2.6	<i>Ponto de fluidez (PF)</i>	37
4.2.7	<i>Ponto de Entupimento de Filtro a Frio (PEFF)</i>	37
4.2.8	<i>Massa específica (ME) a 20°C</i>	37
4.2.9	<i>Viscosidade Cinemática (VC) a 40 °C</i>	38
4.2.10	<i>Lubricidade (Lub)</i>	38
4.2.11	<i>Teor de biodiesel (TB)</i>	38
4.2.12	<i>Enxofre Total (ET)</i>	39
4.2.13	<i>Método de oxidação acelerada por Rancimat</i>	39
4.2.14	<i>Estabilidade oxidativa por PetroOXY</i>	40
4.2.15	<i>Análise térmica por termogravimetria (TG)</i>	40
4.3	Avaliação da atividade microbiana	41
4.3.1	<i>Crescimento de microrganismos em placas de Petri</i>	41
4.3.2	<i>Crescimento de microrganismos em caldo</i>	41
4.3.3	<i>Isolamento dos microrganismos</i>	41
4.3.4	<i>Provas de identificação microbiana</i>	42

5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1	Identificação química dos combustíveis	44
5.1.1	<i>Cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG-EM)</i>	44
	Fonte: Próprio autor	44
5.1.2	<i>Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (IV)</i>	45
5.2	Aspecto e cor dos combustíveis	47
5.3	Parâmetros físicos e químicos dos combustíveis	49
5.3.1	<i>Índice de Acidez (IA)</i>	51
5.3.2	<i>Propriedades de fluxo a frio: Ponto de Névoa (PN), Ponto de Fluidez (PF) e Ponto de Entupimento de Filtro à Frio (PEFF)</i>	52
5.3.3	<i>Massa Específica (ME) a 20 °C e Viscosidade Cinemática (VC) a 40 °C</i>	53
5.3.4	<i>Lubricidade</i>	53
5.3.5	<i>Teor de Biodiesel (TB) e Enxofre Total (ET)</i>	54
5.4	Estabilidade oxidativa	55
5.4.1	<i>Método de oxidação acelerada para biodiesel por Rancimat</i>	55
5.4.2	<i>Método de oxidação acelerada por PetroOXY</i>	56
5.5	Análise térmica por termogravimetria (TG)	58
5.6	Crescimento, isolamento e identificação microbiológico	60
5.6.1	<i>Crescimento de microrganismos em placa de Petri</i>	60
5.6.2	<i>Crescimento de microrganismos em caldo</i>	62
5.6.3	<i>Isolamento dos microrganismos encontrados nos caldos e suas identidades</i>	63
6	CONCLUSÕES	67
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71

Capítulo 1
Introdução

1 INTRODUÇÃO

O biodiesel é descrito, de acordo com a definição da Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) (BRASIL, 2012), como um combustível composto de ésteres alquílicos de ácidos carboxílicos de cadeia longa (entre 12 e 22 carbonos) provenientes da reação de transesterificação ou esterificação de gorduras vegetais ou gorduras animais.

Por possuir características físicas e químicas similares ao diesel derivado de petróleo, o biodiesel é considerado um combustível alternativo. Os motivos para considerar o biodiesel como “ambientalmente correto” se relaciona ao fato de que sua matéria prima é renovável, menos tóxico pela ausência de compostos sulfurados e aromáticos voláteis, emitir menos materiais particulados e pela facilidade de ser biodegradado no meio ambiente (BÜCKER et al., 2011).

Para assegurar a aceitação dos consumidores, a padronização e a garantia de qualidade são fatores indispensáveis para manter este biocombustível no mercado, já que uma das principais desvantagens do biodiesel é sua degradação durante o armazenamento, que pode ocorrer das seguintes formas:

a) Química, através de reações com ar, água, luz, temperatura e presença de metais, cuja reação ocorre preferencialmente nas insaturações das cadeias carbônicas (JAIN e SHARMA, 2010a; RAMALHO et al., 2011); e

b) Por microrganismos, que atuam em todo o éster, sem distinção de tipos de ligações químicas, uma vez que o biodiesel é higroscópico, uma fonte de nutrição e oxigênio favorecendo o crescimento de fungos e bactérias (SCHLEICHER et al., 2009).

Como consequência dos fatores acima citados, a concentração de ésteres diminui para formar produtos degradados, como alcoóis, aldeídos, cetonas, sedimentos e gomas, que podem causar problemas operacionais no veículo (JAIN e SHARMA, 2010a).

Esta problemática associada ao biodiesel vem sendo sentida pela comunidade brasileira (LOURENÇO, 2010), pois a revenda de biodiesel através do BX [mistura de X% de biodiesel e (100-X)% de diesel] para uso em automóveis foi autorizada pela ANP em 2008 com a obrigatoriedade do B2 (2% de biodiesel metílico e 98% de diesel)

e em 2010, o uso do B5 (5% de biodiesel metílico e 95% de diesel) (ANP, 2012) sem restrições às matérias primas a serem utilizadas.

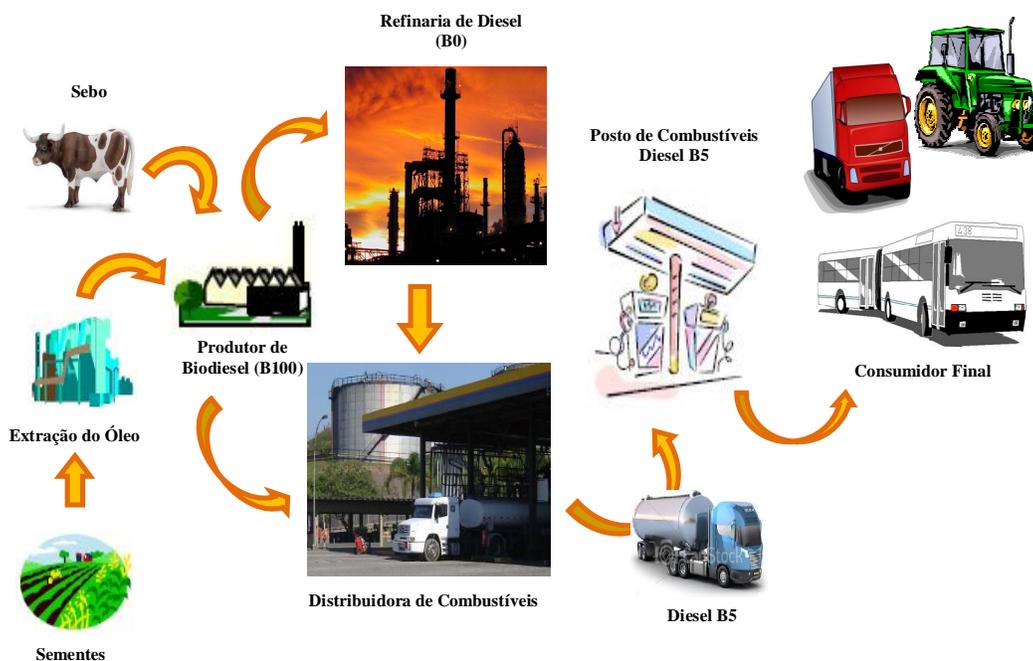
Como forma de assegurar a qualidade dos combustíveis vendidos no Brasil, a ANP emitiu a Cartilha do Posto Revendedor de Combustíveis (BRASIL, 2008) e a Associação Brasileira de Normas Técnicas / Norma Brasileira (ABNT/NBR) publicou a norma ABNT NBR 15512/2008 com objetivo de destacar os requisitos e procedimentos para armazenamento, transporte, abastecimento e controle de qualidade deste novo combustível. Porém, o elevado custo de adequação dos postos levaram os consumidores a perceberem os transtornos da modificação no que diz respeito à turbidez e sedimentação do combustível nos tanques (LOURENÇO, 2010), que causa corrosão das tubulações e entupimento de filtros e sistema de injeção dos automóveis (JAIN e SHARMA, 2010a).

Os problemas em relação ao BX tendem a se agravar em 2013 devido à previsão do B7 (FRANCO, 2012) e da implantação do diesel S10 (10 ppm de enxofre), cuja perspectiva é de baixa demanda pelos consumidores, já que somente os motores de veículos mais novos apresentam a tecnologia para utilização deste combustível com menor teor de enxofre (ALMEIDA, 2012).

O aparecimento de sedimentos e gomas, contudo não é uma particularidade do biodiesel, já que os possíveis compostos que promoveriam a degradação do diesel poderiam ser ácidos sulfônicos e indoles (PEDLEY et al., 1987). Porém, como mostrado por Chao et al. (2010), o B5 pode formar biofilmes e sedimentos quando em contato com água em até 7 dias. Portanto, espera-se que o biodiesel seja mais instável do que o diesel (ARACIL et al., 2007).

A Figura 1.1 ilustra a logística de abastecimento do diesel e biodiesel no Brasil (SKROBOT, 2009).

Figura 1.1 - Logística de abastecimento do biodiesel no Brasil



Fonte: Figura adaptada (SKROBOT, 2009)

Como a logística de distribuição do diesel e biodiesel (Figura 1.1) se inicia por suas produções e finaliza com sua revenda, a distância percorrida entre essas localidades podem promover a degradação destes combustíveis (SILVA et al., 2012), já que o tempo armazenamento é um dos fatores limitantes para manter sua qualidade dos combustíveis.

Neste contexto de biodegradação em combustíveis, verificam-se poucos trabalhos na literatura que caracterize física, química e microbiologicamente o diesel, o biodiesel e suas misturas, visando à investigação do processo de degradação e suas consequências até ao consumidor final.

Capítulo 2
Objetivos

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

- a) Verificar as condições físicas, químicas e microbiológicas do diesel (B0 S500), biodiesel (B100) e B5 (S50 e S500) em tanques de armazenamento de usina de produção de biodiesel, de distribuidora e de postos de abastecimento de combustíveis na grande João Pessoa (PB) nos níveis de bomba e fundo de tanque de armazenamento de combustível;
- b) Identificar a composição química dos biodieseis e dieseis coletados;
- c) Avaliar o comportamento oxidativo e térmico destes combustíveis;
- d) Caracterizar física, química e microbiologicamente os sedimentos e gomas no fundo do tanque de armazenamento destes locais, caso existam;
- e) Isolar e identificar os possíveis microrganismos que possam ter crescido nos dieseis, biodieseis e B5 coletados;
- f) Simular a condição de interface óleo-água do biodiesel, diesel (S500) e B5 (S50 e S500) com os microrganismos identificados, verificar a formação de biofilmes e/ou sedimentos e caracterizá-los.

2.2 Objetivos específicos

- a) Coletar amostras de diesel, biodiesel e B5 nos níveis de fundo dos tanques de armazenamento e bomba de abastecimento de:
 - Uma usina de biodiesel;
 - Uma distribuidora de diesel (S500) e biodiesel;
 - Dois postos em João Pessoa (PB) com B5 S50 e S500.
- b) Caracterizar física e quimicamente de acordo com as resoluções da ANP, as amostras de diesel, biodiesel e B5 coletadas:
 - Índice de acidez – ASTM D664;
 - Ponto de névoa – ASTM D2500;
 - Ponto de fluidez – ASTM D97;
 - Ponto de entupimento de filtro a frio – ABNT NBR 14747;

- Massa específica a 20 °C – ABNT NBR 14065;
 - Viscosidade cinemática a 40 °C – ABNT NBR 10441;
 - Lubricidade – ASTM D6079;
 - Teor de biodiesel – ABNT NBR 15568;
 - Enxofre total – ASTM D2622;
 - Composição de ésteres por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG-EM) – ABNT NBR 15764;
 - Caracterização de hidrocarbonetos e ésteres – Espectroscopia por infravermelho (IV);
 - Método de oxidação acelerada por Rancimat – EN 14112;
 - Método de oxidação acelerada por PetroOXY – ASTM D7545;
 - Análise térmica – Termogravimetria (TG).
- c) Isolar e identificar microrganismos das amostras coletadas na usina, distribuidora e postos revendedores.
- d) Verificar a formação de biofilmes e sedimentos inoculando nas amostras de diesel e biodiesel os microrganismos identificados e caracterizar por infravermelho.

Capítulo 3
Fundamentação Teórica

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Diesel

Da geração de energia ao uso em fármacos, o petróleo e seus derivados estão cada vez mais presentes no cotidiano. Depois da materialização do motor de combustão interna e produção de automóveis em larga escala, as indústrias petroquímicas alcançaram seu auge nos séculos XX e XXI devido aos avanços tecnológicos e inovações industriais que os combustíveis fósseis os proporcionaram (SOUSA, 2008).

O desenvolvimento do motor de combustão interna por Rudolph Diesel e o sistema de injeção direta de combustível por Bosch alavancaram a produção de um dos subprodutos da destilação do petróleo: o diesel (SOUSA, 2008).

A composição química do diesel é caracterizada por frações leves de querosene e naftas (5% a 10% da concentração) e frações mais pesadas, como o óleo leve, com temperatura de destilação entre 160 °C e 380 °C, que são obtidos após o craqueamento catalítico do petróleo. Esta mistura complexa de *n*-parafinas, parafinas ramificadas, cicloalcanos de um a três anéis, aromáticos mono e polinucleados são complementados com aditivos anticorrosivos, antioxidantes, antiespumantes, desemulsificantes, desativadores de metais, dissipadores de cargas elétricas, detergentes, dispersantes e melhoradores de lubricidade, escoamento e cetano (LAURO, 2006; SOUZA, 2008).

De acordo com a Resolução ANP n°. 65/2011 (BRASIL, 2011), os dieséis rodoviários no Brasil são classificados da seguinte forma:

- a) Óleo diesel tipo A: combustível proveniente de processos de refino de petróleo, centrais de matérias-primas petroquímicas ou autorizadas, sem adição de biodiesel;
- b) Óleo diesel tipo B: é o óleo diesel tipo A com adição de biodiesel.

Estes tipos de diesel são subclassificados de acordo com seu teor de enxofre, seguindo a nomenclatura adotada pela Resolução ANP n°. 65/2011 (BRASIL, 2011) válida a partir do dia 1° de janeiro de 2012:

- a) Óleo diesel A S10 e B S10: contendo no máximo 10 mg kg⁻¹ de enxofre;
- b) Óleo diesel A S50 e B S50: contendo no máximo 50 mg kg⁻¹ de enxofre;
- c) Óleo diesel A S500 e B S500: contendo no máximo 500 mg kg⁻¹ de enxofre;
- d) Óleo diesel A S1800 e B S1800: contendo no máximo 1800 mg kg⁻¹ de enxofre.

A substituição do diesel S1800 pelo S500 foi iniciada em 2012, ficando vedado o comércio do primeiro a partir de 2014. Em relação aos dieséis com menores concentrações de enxofre, o período de adaptação para o S50 ocorreu em 2012 e que está sendo substituído totalmente pelo diesel S10 até o fim de 2013.

Esta alteração de concentração de enxofre no diesel visa reduzir a poluição do ar nos centros urbanos em obediência às exigências da fase L6 do Programa de Controle da Poluição do Ar por Veículos Automotores (PROCONVE), cuja descrição se encontra no capítulo III da Resolução nº. 415/2009 (BRASIL, 2009) do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA).

Apesar de benéfico à saúde e ao meio ambiente, a redução de enxofre diminui a lubricidade do combustível, acarretando problemas de desgaste em algumas partes do motor e sua estabilidade à oxidação, já que alguns compostos sulfurados funcionam como lubrificante e antioxidante inerentes do diesel (SOARES, 2002; (KARAVALAKIS et al., 2010)).

Lauro (2006) sugere que os requisitos de um bom combustível do ciclo diesel são:

- a) Permitir partida rápida e eficiente;
- b) Proporcionar aquecimento uniforme e suave aceleração;
- c) Detonação sem problemas de operação;
- d) Queima completa do combustível para minimizar emissão de CO_x , NO_x , SO_x e particulados;
- e) Não cristalizar ou solidificar a temperaturas maiores que 0°C ; e
- f) Evitar a diluição do óleo lubrificante e simultaneamente ajudar a lubrificação da câmara de combustão.

Em contra partida aos parâmetros acima citados, tem-se que os fatores que influenciam a qualidade do diesel (WESTBROOK e LECREN, 2003), principalmente durante o armazenamento, são:

- a) Presença de água, que pode promover a corrosão do tanque de armazenamento, proliferação microbiana, cristalização da água (em baixas temperaturas);
- b) Elevadas temperaturas que podem acelerar reações de degradação do combustível;
- c) Contaminação microbiana que conduz a degradação de combustível pelos produtos metabólicos, corrosão dos tanques e emulsificação da interface óleo-água;

- d) Mistura de combustíveis estáveis que podem resultar em reações químicas antagônicas promovidas por alguns agentes precursores que instabilizam o diesel.

3.2 Biodiesel

A ampla aceitação do biodiesel está associada à eficácia da transesterificação que reduz a viscosidade do óleo, cuja propriedade se aproxima ao do diesel convencional. Além de ser biodegradável, é essencialmente livre de enxofre e aromáticos; reduz a emissão de gases tóxicos; possui elevado número de cetano e ponto de fulgor; e não há restrições técnicas em relação ao tipo de triacilglicérido, o que torna o biodiesel uma alternativa competitiva e viável ao diesel convencional, que provém de fontes não renováveis, como o petróleo (SINGH e SINGH, 2010; FUKUDA et al., 2001; RAMOS et al., 2009).

Ramos et al. (2009) consideram que a produção de biodiesel não possui restrições técnicas ao uso de diferentes tipos de óleos vegetais e gorduras animais, logo frequentemente são investigadas oleaginosas que ocorrem abundantemente em uma determinada região. Assim, a inserção do biodiesel na matriz energética representa uma possibilidade ao fortalecimento da agroindústria regional e à geração descentralizada de energia, podendo atuar como forte apoio à agricultura familiar e possibilitando o consórcio de culturas.

No entanto, o biodiesel apresenta várias desvantagens em relação ao diesel fóssil no que diz respeito à estabilidade oxidativa e microbiológica; as propriedades de fluxo a baixa temperatura (RYU, 2010); os problemas na atomização na câmara de combustão devido a sua maior viscosidade (KNOTHE, 2007); a baixa energia de combustão; ser higroscópico (SINGH e SINGH, 2010); e sua biodegradabilidade. Logo, espera-se que o biodiesel se deteriore mais rapidamente do que o diesel convencional (ARACIL et al., 2007).

Em relação ao uso do biodiesel no Brasil, o governo brasileiro legalizou a mistura diesel-biodiesel no país, em 2008, com o intuito de ampliar suas políticas ambientais, iniciando com a vigência do B2 (2% de biodiesel e 98% de diesel de petróleo). Em 2010, a mistura atingiu a proporção de 5% de biodiesel ao diesel, cuja regulação é de responsabilidade da ANP (BRASIL, 2012).

Esta iniciativa evidencia as inúmeras oleaginosas e gorduras que podem ser utilizadas na produção do biodiesel, uma vez que o Brasil possui um vasto território com diferentes condições ambientais, podendo cada região selecionar o tipo de triacilglicerídeo mais abundante, mais barato e com melhor adaptação climática.

3.3 Degradação do diesel e biodiesel

O diesel e o biodiesel têm a maior parte de suas características físicas e químicas similares, apesar de suas estruturas químicas serem diferentes, já que o primeiro é composto de hidrocarbonetos aromáticos e parafínicos com 10 a 16 carbonos e o outro, de ésteres de 12 a 22 carbonos em sua cadeia (SINGH e SINGH, 2010). Porém, uma das propriedades mais importantes que os diferenciam é a estabilidade (ARACIL et al., 2007), que é definida como a resistência de o combustível se alterar física e quimicamente quando em interação com o ambiente (WESTBROOK e LECREN, 2003).

A formação de gomas e sedimentos, assim como de coprodutos oxidativos, é derivada de processos térmicos e/ou oxidativos principalmente durante o período de armazenamento dos combustíveis. Os fatores de aceleração à degradação, comuns ao diesel e biodiesel, são: a presença de metais, temperatura, microrganismos, agentes precursores ou pró-oxidantes (WESTBROOK e LECREN, 2003; KNOTHE, 2005).

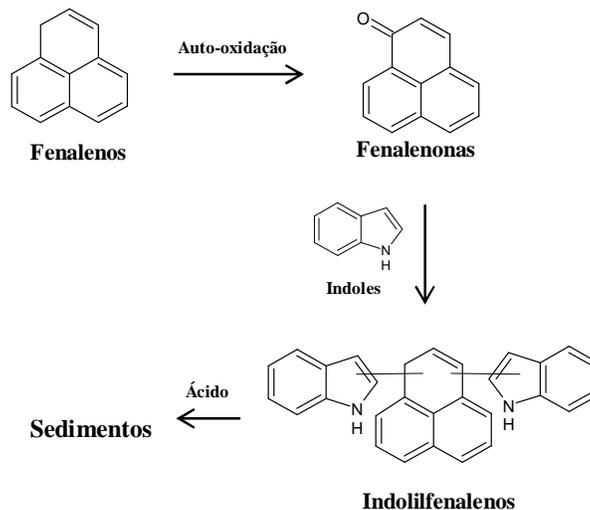
O processo de oxidação destes combustíveis promove sua não conformidade e resulta na diminuição da atomização durante sua injeção na câmara de combustão devido ao aumento da viscosidade; corrosão dos tanques e tubulações pela presença de ácidos e peróxidos; aumento no consumo de combustíveis; batida de pinos e entupimento de filtro devido aos sedimentos, gomas ou saturações, que são produtos de degradação do diesel e biodiesel (ARAÚJO et al., 2009).

A reação de degradação do diesel é complexa e envolve espécies precursoras que geralmente são hidrocarbonetos com heteroátomos de enxofre e/ou nitrogênio (WESTBROOK e LECREN, 2003).

Pedley e colaboradores (1989) sugerem que o sedimento pode ser formado durante o armazenamento pela série de reações químicas mostradas na Figura 3.1. Em que a primeira etapa de formação de sedimentos é a auto-oxidação de fenalenos a fenalenonas. Esta se condensa com indoles para formar compostos precursores de

sedimentação como os indolilfenalenos, que são solúveis no diesel. A precipitação se inicia quando os precursores se combinam com ácidos e se tornam os sedimentos deste combustível.

Figura 3.1 - Mecanismo proposto para formação de insolúveis no diesel

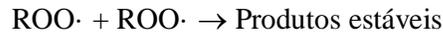
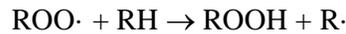


Fonte: Pedley et al., 1989.

Para o biodiesel, as alterações ocorridas durante o período de armazenamento são provocadas fundamentalmente pelas reações de auto-oxidação dos ésteres insaturados por estes serem mais reativos com o oxigênio do ar ou da água. Os produtos desta reação são mais instáveis e se decompõem em espécies de alta massa molecular, que elevam a viscosidade, formam sedimentos, alteram sua cor e reduzem sua vida útil (LEUNG, 2006; ARACIL et al., 2007; JAIN e SHARMA, 2010a).

O mecanismo da reação de auto-oxidação dos ésteres (Figura 3.2) foi proposto por Scrimgeour (2005). Uma espécie reativa abstrai um hidrogênio do átomo de carbono, formando um radical livre que na presença de oxigênio diatômico concebe um radical peróxido que retira um hidrogênio de outro átomo de carbono, cujos produtos são um hidroperóxido e um radical livre. O novo radical livre pode reagir com o oxigênio continuando a propagação oxidativa ou se ligar com outro radical livre, promovendo formação de produtos estáveis (JAIN e SHARMA, 2010a; RAMALHO et al., 2011).

Figura 3.2 – Mecanismo proposto para reação de auto-oxidação de ésteres



Fonte: Scrimgeour, 2005

Para prevenção das consequências dos processos oxidativos, recomenda-se a limpeza, drenagem da água, revestimento interno e proteção catódica nos tanques de armazenamento de combustíveis (GAYLARD et al., 1999).

Outras orientações que podem manter a qualidade dos combustíveis em toda a logística de distribuição (Figura 1.1) estão descritas na ABNT NBR 15512 (2008) e na Cartilha do Posto Revendedor de Combustíveis (BRASIL, 2008) emitida pela ANP, que sugerem requisitos e procedimentos para o armazenamento, transporte, abastecimento e controle de qualidade de biodiesel e/ou misturas diesel/biodiesel.

3.4 Degradação Microbiológica em Combustíveis

Owsianiak e colaboradores (2009) definem que o processo de biodegradação é usualmente efetuado por comunidades microbianas que se cooperam metabolicamente pela troca de substratos e produtos entre os membros destas comunidades.

Tal processo microbiológico tem potencial aplicação no desenvolvimento da bioremediação e biocrescimento para recuperação de áreas contaminadas com vazamentos de derivados de petróleo (SU et al., 2011). Contudo, a presença de microrganismos é um dos principais responsáveis por contaminações de produtos armazenados na indústria.

Os microrganismos geralmente são provenientes do solo, do ar, da água, das tubulações e também do nível de instalação (subsolo ou na superfície do terreno) dos tanques combustíveis (RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ et al., 2010).

Ressalta-se também a corrosão dos tanques de armazenamento causada pelos microrganismos. De acordo com Videla (1986) o processo corrosivo foi mencionado pela primeira vez em 1891 por Garrett quando se referiu à corrosão do chumbo devido à presença de amoníaco, nitratos e nitritos produzidos por bactérias. Isto ocasionalmente ocorreu porque os danos causados por microrganismos são difíceis de avaliar, de um modo geral, devido à grande variedade de casos de corrosão em metais.

É importante salientar que na indústria petroquímica este fenômeno se torna mais crítico, especialmente em tanques de armazenamento de combustíveis, isto devido à presença de água (GENTIL, 2007). De acordo com Gaylard et al. (1999), a exigência mais importante para o crescimento microbiano em combustíveis derivados do petróleo é a água e o carbono que são fontes de nutrição. Portanto, tem-se como consequência a produção de agentes emulsificantes que promovem a interface óleo-água e aceleram a decomposição do óleo e sua solubilidade em água (SU et al., 2011). Por este motivo, geralmente, procura-se manter o ambiente livre de água, apesar de esta poder penetrar no combustível e se acumular em áreas de difícil drenagem.

Dentre os combustíveis derivados de petróleo, observou-se que o diesel contaminado com microrganismos tem maior tendência a diminuir sua qualidade durante o armazenamento em comparação com a gasolina devido à formação de sedimentos e gomas (GAYLARD et al. 1999; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ et al., 2010).

Outras consequências da ação microbiana são observadas na biodegradação de aditivos orgânicos, que têm a função de melhorar o desempenho do combustível e a formação de ácido sulfídrico pelo microrganismo que pode agir diretamente como agente corrosivo e/ou reagir com componentes do combustível formando sulfetos orgânicos que, conseqüentemente, causam a deterioração do revestimento do tanque (GENTIL, 2007).

A temperatura é outro fator limitante, pois esta afeta tanto a química dos hidrocarbonetos e seu meio quanto à fisiologia e diversidade das colônias (DAS e CHANDRAN, 2011).

Alguns autores relatam resultados obtidos em suas pesquisas realizadas com microrganismos degradadores de biocombustíveis. Bento et al. (2005) inocularam *Aspergillus fumigatus*, *Hormoconis resiniae*, *Candida silvicola* e o consórcio com estes três microrganismos na interface diesel-água de um tanque de armazenamento. Após 60 dias de incubação, caracterizaram as amostras através da cromatografia gasosa acoplada

a espectrometria de massas (CG/EM). Dentre os microrganismos estudados, os autores observaram que o *A. fumigatus* foi o responsável pela maior produção de biomassa, sendo, portanto, o agente com maior poder de degradação dos hidrocarbonetos do diesel e adicionalmente também o responsável pela produção de produtos metabólicos na fase aquosa da interface como os ácidos orgânicos, alcoóis e cetonas. A *C. silvicola* foi o que menos degradou o diesel neste período, porém a formação de emulsões na fase oleosa poderia aumentar a biodegradação dos hidrocarbonetos. Os resultados mostraram que em geral os hidrocarbonetos parafínicos com 11 e 13 carbonos foram os mais degradados por estes fungos.

Rodríguez-Rodríguez et al. (2010) monitoraram gasolina comum, gasolina Premium e diesel comum nos níveis de topo e fundo de tanques em distribuidoras de algumas regiões da Costa Rica. O trabalho avaliou que a contaminação fúngica era maior no diesel e no fundo dos tanques devido ao acúmulo de água, a diversidade de compostos orgânicos (incluindo aditivos) e a baixa concentração de enxofre. Apesar destes resultados, notou-se que as amostras de diesel do topo do tanque se enquadram nos limites especificados pelo governo da Costa Rica para as caracterizações físicas e químicas deste combustível. No isolamento dos bolores foram encontradas colônias de *Penicillium sp.*, *Cladosporium sp.*, *Aspergillus sp.* e *Paecilomyces sp.* e das leveduras *Candida tropicalis*, *Candida guilliermondii*, *Candida famata* e *Candida parapsilosis*.

Chao et al. (2010) isolaram e caracterizaram bactérias, fungos e leveduras nos sedimentos nas blendas de B5. Os autores observaram ausência de fungos, mas encontraram bactérias, cujos isolamentos identificaram as espécies *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella nov. sp.* e *Staphylococcus sp.*, que seriam elementos patogênicos oportunistas da pneumonia (JUNIOR et al., 2009). Verificou-se ainda que dentre as três bactérias, a *Klebsiella oxytoca* seria a responsável pela formação de polissacarídeos extracelulares (exopolissacarídeos) e, do consequente aparecimento de sedimentos e biofilmes nestas amostras, que as seriam responsáveis pelo entupimento de válvulas e filtros do sistema de abastecimento de combustíveis do Porto de Seattle (EUA).

O trabalho desenvolvido por Bucker et al. (2011) na Região Sul do Brasil, acompanhou o crescimento do *Aspergillus fumigatus* e *Paecilomyces sp.* durante 60 dias no diesel e biodiesel puro e suas misturas B5, B10 e B20 e de *Candida silvicola* e *Rhodotorula sp.* no B20 e B100 por 7 dias e ainda a possível degradação do B0 de soja causada pela ação de microrganismos. Eles observaram que os microrganismos que mais se desenvolveram foram o *A. fumigatus*, com formação de biomassa quase três

vezes maior no B100 do que no B0 e a *Rhodotorula* sp. Verificou-se ainda que o B0 soja foi degradado pela *Rhodotorula* sp., preferencialmente, nos ésteres C18:3 seguido pelo C18:1 e C16:0 e que a *C. silvicola* degradou 100% de todos os ésteres no período de uma semana, além de desenvolver a formação de microemulsão branca.

Capítulo 4
Metodología

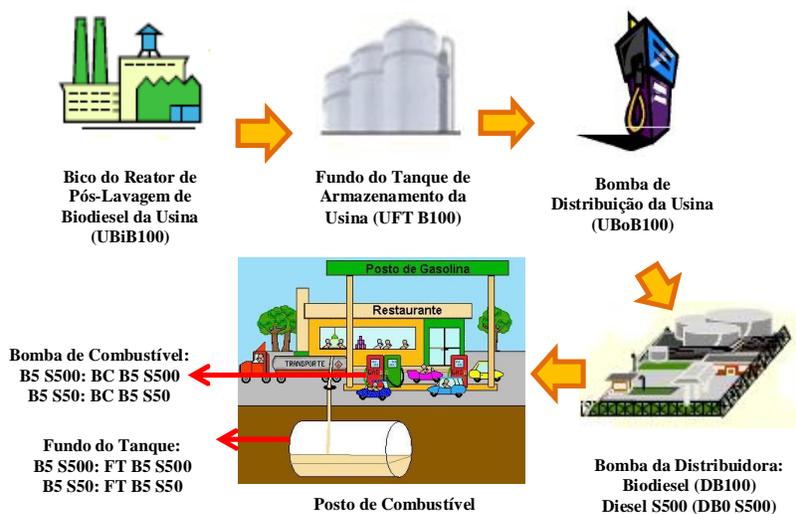
4 METODOLOGIA

4.1 Coleta das Amostras

A Figura 4.1 representa o esquema de coletas das seguintes amostras:

- Em uma usina experimental de produção de biodiesel¹ – níveis: fundo de tanque de armazenamento (UFT B100), no bico do reator de lavagem de biodiesel (UBiB100) e na bomba de combustível do biodiesel (UBC B100);
- Em uma distribuidora de combustíveis¹: diesel A S500 (DB0 S500) e biodiesel puro (DB100) no nível da bomba de distribuição;
- Em dois postos revendedores de combustíveis¹: B5 S500 – níveis: fundo de tanque (FT B5 S500) e bomba de combustível (BC B5 S500) – e outro, B5 S50 – nos níveis: fundo de tanque (FT B5 S50) e bomba de combustível (BC B5 S50). As amostras foram mantidas em gelo durante o transporte e permaneceram refrigeradas até o momento de análise.

Figura 4.1 - Esquema de coleta das amostras



Fonte: Próprio autor

4.1.1 Dados sobre os locais de coleta

¹ As empresas que cederam os combustíveis estudados neste trabalho não são identificadas com a finalidade de manter sigilo sobre os resultados obtidos e a integridade destas instituições comerciais.

A Tabela 4.1 elucida as condições de armazenamento, frequência de produção / abastecimento, drenagem dos tanques, última chuva e a data da coleta das amostras. Estas peculiaridades de cada local de coleta podem inferir na justificativa de possíveis diferenças entre as propriedades físicas e químicas dos biodieseis e dieiseis em questão.

Tabela 4.1 - Características dos locais de coleta de amostras

Local de Coleta	Usina	Distribuidora	Posto S500	Posto S50
Tempo de Armazenamento	3 meses	7 dias máx.	15 dias máx.	10 dias máx.
Frequência de Produção / Abastecimento	Por demanda	3 dias máx.	20 dias máx.	20 dias máx.
Drenagem dos Tanques	Não	Sim	Não	Sim
Presença de Antioxidante no B100	Não	Sim	Sim	Sim
Última Chuva	Janeiro/2012	Agosto/2012	Agosto/2012	Agosto/2012
Data da Coleta	Setembro/2012	Setembro/2012	Setembro/2012	Setembro/2012

Fonte: Próprio autor

4.2 Caracterizações físicas, químicas, térmicas e oxidativas

Os experimentos foram realizados no Laboratórios de Combustíveis e Materiais (Departamento de Química / Centro de Ciências Exatas e da Natureza) da Universidade Federal da Paraíba – Campus I.

4.2.1 Composição dos ésteres

Foi realizada de acordo com a norma ABNT NBR 15764 em um cromatógrafo gasoso acoplada ao espectrômetro de massa (CG-EM) da SHIMADZU, modelo GCMS-QP2010. A coluna capilar utilizada foi a da Agilent Technologies DB-5 com fase estacionária de 5% fenil-metilpolisiloxano e 95% dimetilpolisiloxano e dimensões 30 m x 0,25 mm x 0,1 μm . O gás de arraste foi Hélio com vazão de 3 mL.min⁻¹, volume de

injeção de 1 μL com razão de split 1:50. A programação de aquecimento da coluna iniciou em 150 $^{\circ}\text{C}$ com aumento de 20 $^{\circ}\text{C}/\text{mL}$ até 380 $^{\circ}\text{C}$, permanecendo nesta temperatura por 10 minutos. O tempo total de análise foi de 35 minutos. A temperatura do detector foi de 380 $^{\circ}\text{C}$ e do injetor seguiu a programação de temperatura do forno. O fator de diluição da amostra em acetonitrila foi de 1:150.

4.2.2 *Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho*

Os espectros de absorção na região do infravermelho das amostras foram obtidos em um espectrômetro da Shimadzu modelo IR Prestige-21 com transformação de Fourier, usando pastilha de KBr, na faixa de 4000-400 cm^{-1} , tendo sido feitas 20 varreduras com resolução 4 cm^{-1} .

4.2.3 *Aspecto e Cor*

O método utilizado para descrever o aspecto (se límpido, turvo, com ou sem impurezas) e a cor das amostras foi o da ABNT NBR 14954.

4.2.4 *Índice de Acidez (IA)*

Dentre os parâmetros de qualidade indicadas para amostras oleosas, o índice de acidez é definido como a massa de hidróxido de potássio necessária para neutralizar os ácidos livres de 1 g da amostra como consequência de processos de hidrólise, oxidação ou fermentação, alterando a concentração de íons hidrogênio do meio (ZENOBON et al., 2008). A determinação foi feita no equipamento da Metrohm 848 Titrino Plus que realiza titulação potenciométrica. O titulante utilizado foi KOH em propan-2-ol de acordo com a norma ASTM D 664 pelo método A para diesel e método B para biodiesel. O ensaio foi realizado em triplicata para cada amostra. O resultado foi expresso em mg KOH g^{-1} de amostra.

4.2.5 *Ponto de névoa (PN)*

O teste foi feito seguindo a norma ASTM D2500. Submete-se uma dada quantidade da amostra a resfriamento numa taxa específica, até que haja o

aparecimento, pela primeira vez, de uma área turva no fundo do tubo de teste, cuja detecção dessa tubidez é feita por um feixe de luz infravermelha. O teste foi feito no equipamento marca TANAKA e modelo MPC – 102L. O ensaio foi realizado em duplicata por amostra.

4.2.6 *Ponto de fluidez (PF)*

De acordo com a norma ASTM D97, o ponto de fluidez é a menor temperatura na qual uma amostra flui quando sujeito a resfriamento sob condições determinadas de teste. A detecção desta temperatura é dada pela sucção da amostra por uma bomba de vácuo interna ao equipamento durante o resfriamento de todo o sistema, quando não há mais a movimento da amostra devido à cristalização total, é dado o ponto de fluidez. É principalmente controlado para avaliar o desempenho nas condições de uso em que o óleo é submetido a baixas temperaturas ou em climas frios. O teste foi realizado no equipamento marca TANAKA, modelo MPC – 102L. O ensaio foi realizado em duplicata para cada amostra.

4.2.7 *Ponto de Entupimento de Filtro a Frio (PEFF)*

O teste, de acordo com a norma ASTM D6371, consiste no resfriamento do combustível até uma temperatura em que ele cesse de correr através do filtro dentro de 60 segundos ou pelo fato de não retornar ao frasco de teste. O equipamento utilizado para esta determinação foi o da marca TANAKA Scientific Limited, modelo AFP-102. O ensaio foi realizado em duplicata para cada amostra.

4.2.8 *Massa específica (ME) a 20°C*

A massa específica a 20 °C das amostras foram determinadas segundo a NBR 14065. O densímetro digital utilizado foi o DA-645, fabricado pela KEM. Após a calibração do equipamento com água destilada, mede-se 50 mL de amostra e preenche-se a célula do densímetro para realizar a determinação da densidade. O resultado foi expresso em kg m^{-3} . O ensaio foi realizado em duplicata por amostra.

4.2.9 Viscosidade Cinemática (VC) a 40 °C

A análise baseada pela norma ASTM D445 é feita fazendo-se escoar, sob gravidade, uma quantidade controlada da amostra através de um viscosímetro de tubo capilar de vidro, sob temperatura previamente fixada e mantida sob controle. Anota-se o tempo necessário ao escoamento que posteriormente é corrigido conforme o fator do tubo. Quanto maior for o tempo necessário ao escoamento, mais viscoso é o produto. A viscosidade assim determinada é conhecida como viscosidade cinemática. A viscosidade foi determinada utilizando-se um viscosímetro cinemático manual, marca JULABO 18 V, na temperatura de 40 °C. O ensaio foi realizado em duplicata por amostra.

4.2.10 Lubricidade (Lub)

O método adotado para determinação da lubricidade foi o normatizado pela ASTM D6079 em um High-Frequency Reciprocation Rig (HFRR). O modelo do lubrificímetro utilizado foi HFRC 570 da PCS Instruments. O ensaio utiliza 2 mL da amostra que é posta no reservatório do equipamento de HFRR. O braço vibratório segura uma bola de aço e carrega uma massa de 200 g que é abaixado até o contato com o disco de teste imergido no combustível. Quando a temperatura do combustível se estabiliza, a bola inicia a friccionar o disco com frequência de 50 Hz por 75 minutos. A temperatura de combustível é mantida a 60 °C com umidade relativa entre 30 % e 85%. Após a conclusão do teste, a parte superior do espécime é removida do vibrador e limpa. A medição é feita pelas dimensões do maior e menor eixo de desgaste do disco através de um microscópio digital.

4.2.11 Teor de biodiesel (TB)

Os espectros de absorção na região do infravermelho das amostras foram obtidos em um espectrômetro da Shimadzu modelo IR Prestige-21 com transformação de Fourier, usando pastilha de KBr, na faixa de 1820-1670 cm^{-1} , referente à região de absorção C=O característico de ésteres. O método aplicado foi o da ABNT NBR 15568. O ensaio foi realizado em triplicata para cada amostra.

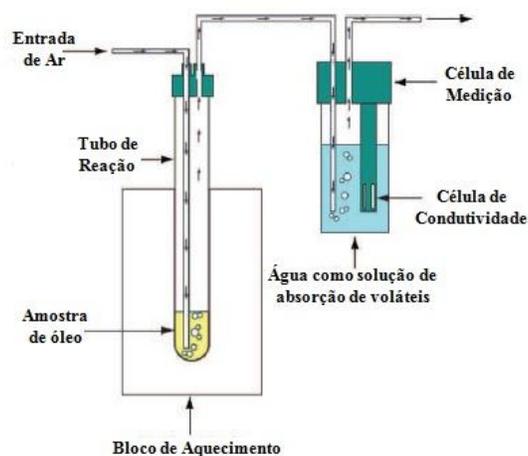
4.2.12 Enxofre Total (ET)

Foi adotada a norma da ASTM D2622 para determinação de enxofre total nas amostras de B0 e B5. O método se baseia em quantificar a concentração de enxofre através da diferença entre as intensidades do feixe de raios-X emitidas pela amostra e pelo branco. O resultado obtido é comparado com uma curva analítica previamente preparada. O equipamento utilizado foi o XOS Sindie OTG Sulfur Analyser 16 32.06. O ensaio foi realizado em duplicata por amostra.

4.2.13 Método de oxidação acelerada por Rancimat

A análise pelo método de oxidação acelerada a 110°C foi realizada em um equipamento da marca Metrohm, modelo 873 Biodiesel Rancimat, atmosfera de oxigênio a 10 L.h⁻¹, temperatura de 110 °C, seguindo a metodologia EN 14112. O método consiste em injetar gás oxigênio na amostra e, a partir do início da dissociação dos ácidos carboxílicos mais voláteis, medir o período de indução oxidativa, que fará com que a condutividade elétrica da água deionizada mude bruscamente, uma vez que há um canal que conecta os voláteis da amostra à água deionizada, como mostra a Figura 4.2 (JAIN e SHARMA, 2010b). O ensaio foi realizado em duplicata por amostra.

Figura 4.2 - Esquema do teste de oxidação acelerada por Rancimat

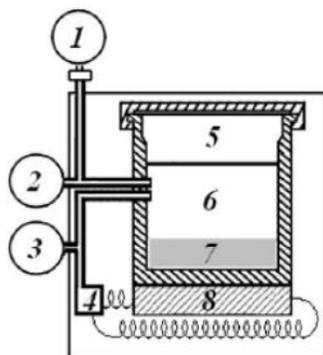


Fonte: JAIN e SHARMA, 2010b

4.2.14 Estabilidade oxidativa por PetroOXY

As amostras foram analisadas de acordo com a ASTM D7545 em que foi empregado o PetroOXY da PetroTest, ilustrado na Figura 4.3 (ARAÚJO et al., 2009). A metodologia adotada para medir o período de indução oxidativa de diesel, biodiesel e suas misturas, utiliza 5 mL de amostra que é colocada em uma célula de pressão a 700 kPa a temperatura ambiente e submetida a 140 °C. O período de indução é dado quando há uma queda de 10% da pressão máxima atingida na câmara, que se relaciona ao consumo de oxigênio da célula de pressão pela amostra para formação de produtos de oxidação. O ensaio foi realizado em duplicata por amostra.

Figura 4.3 - Esquema do método de oxidação acelerada por PetroOxy.



Fonte: ARAÚJO et al., 2009. Legenda: (1) fonte de oxigênio; (2) aferidor de pressão; (3) termopar; (4) controlador de temperatura; (5) rosca; (6) câmara de pressão; (7) amostra; (8) aquecedor.

4.2.15 Análise térmica por termogravimetria (TG)

As curvas TG foram obtidas em uma Termobalança da marca Shimadzu DTG-60, através do método não isotérmico de análise, com razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹, com massa aproximadamente de 10 mg em cadinho de platina na atmosfera de ar sintético com fluxo de 50 mL.min⁻¹ da temperatura ambiente até aproximadamente 500 °C. A partir da tangente da curva TG pode ser possível verificar a temperatura *onset*, que é a temperatura em que se inicia alguma etapa de degradação da amostra, e, assim, observar seus perfis de decomposição térmica.

4.3 Avaliação da atividade microbiana

Estes experimentos foram realizados no Laboratório de Micologia Clínica (Departamento de Ciências Farmacêuticas / Centro de Ciências da Saúde) da Universidade Federal da Paraíba – Campus I.

4.3.1 Crescimento de microrganismos em placas de Petri

Após a coleta, as amostras foram inoculadas em placas de Petri (90 mm x 15 mm) plásticas, descartáveis e estéreis, contendo previamente nas placas o meio nutritivo Agar Sabouraud Dextrose (Difco) solidificado. As placas foram deixadas a temperatura ambiente por até 30 dias para verificação e isolamento dos microrganismos na forma de colônias. Posteriormente, cada placa de Petri foi avaliada de maneira criteriosa e aquelas com crescimento microbiano seguiram para o processo de isolamento (Seção 4.3.3).

4.3.2 Crescimento de microrganismos em caldo

Para indução do crescimento de microbiano em meio líquido, inoculou-se 1 mL de amostra em 10 mL de meio nutritivo de Caldo Sabouraud Dextrose (Himedia) em tubos de ensaios que posteriormente foram vedados com tampões de algodão e mantidos a temperatura ambiente por até 14 dias para avaliação do crescimento microbiano e/ou turvação da mistura. As amostras que apresentaram crescimento de microrganismos e/ou turvação foram isoladas (Seção 4.3.3).

4.3.3 Isolamento dos microrganismos

O isolamento foi realizado inoculando as amostras que apresentaram crescimento microbiano (Seção 4.3.1 e 4.3.2) em placas de Petri. As placas foram deixadas a temperatura ambiente por até 14 dias para verificação do crescimento microbiano. Somente as amostras que tiveram crescimento microbiano foram identificadas (Seção 4.3.4).

4.3.4 Provas de identificação microbiana

O processo de identificação foi conduzido conforme procedimentos adotados como rotina no laboratório de microbiologia, utilizando-se esquemas específicos para microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos (MURRAY et al., 2000; SANTOS FILHO, 2003). Após identificação macroscópica, as amostras consideradas contaminantes foram confirmadas através de testes e provas específicas.

As provas para determinar os microrganismos pertencentes à família *Enterobacteriaceae* foram: o de agar triplice sugar iron, ureia, prova do indol, ornitina e mobilidade, desaminação da fenilalanina, descarboxilação da lisina e citrato, de acordo com as metodologias propostas por Mac Faddin (1980).

A identificação de fungos leveduriformes foi realizada através dos métodos clássicos: pesquisa do tubo germinativo, prova de pseudofilamentação e clamidoconídio (microcultivo), auxonograma, zimograma e urease. Na realização destas etapas se seguiu as metodologias propostas por Kryger van Rij (1984); Lacaz e Porto (1991) e Kurtzman e Feil (1998).

Para identificar fungos filamentosos foi realizada o estudo da macromorfologia (aspecto e pigmentação das colônias) e micromorfologia das colônias (hifas vegetativas e estruturas de reprodução), que foi realizado através da técnica de microcultivo em lâminas (GUARRO e HOOG, 1980; LACAZ et al., 1998). Essa técnica tem como fundamento a possível visualização correta das estruturas fúngicas, incluindo as hifas vegetativas, reprodutivas e esporos.

Capítulo 5
Resultados e Discussão

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Identificação química dos combustíveis

5.1.1 Cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG-EM)

As composições dos ésteres das amostras de biodiesel coletadas na usina e na distribuidora são mostradas na Tabela 5.1.

Tabela 5.1 - Composição dos ésteres das amostras coletadas na usina de biodiesel e na distribuidora de combustíveis.

Éster, %	Rota de Produção: Metflica			
	Amostras			
	UFT B100	UBiB100	UBC B100	DB100
Miristato (C14:0)	0,54	0,54	0,53	1,06
Pentadecanato (C15:0)	0,00	0,00	0,00	0,17
Palmitato (C16:0)	20,62	20,34	20,67	18,90
Palmitoleato (C16:1)	0,37	0,32	0,37	0,60
Heptadecanato (C17:0)	0,00	0,00	0,00	0,44
Estearato (C18:0)	3,76	3,84	3,82	9,26
Oleato (C18:1)	21,45	21,55	21,61	25,78
Linoleato (C18:2)	49,65	49,74	49,40	39,95
Linolenato (C18:3)	3,03	3,05	3,08	3,16
Araquídato (C20:0)	0,32	0,35	0,30	0,37
Behenato (C22:0)	0,26	0,28	0,22	0,31

Fonte: Próprio autor

Verifica-se que apesar de UFT B100, UBiB100 e UBC B100 terem sido coletadas em diferentes partes da usina, elas não apresentaram variações notáveis em suas composições, cuja predominância são dos ésteres linoleato, oleato e palmitato de metila.

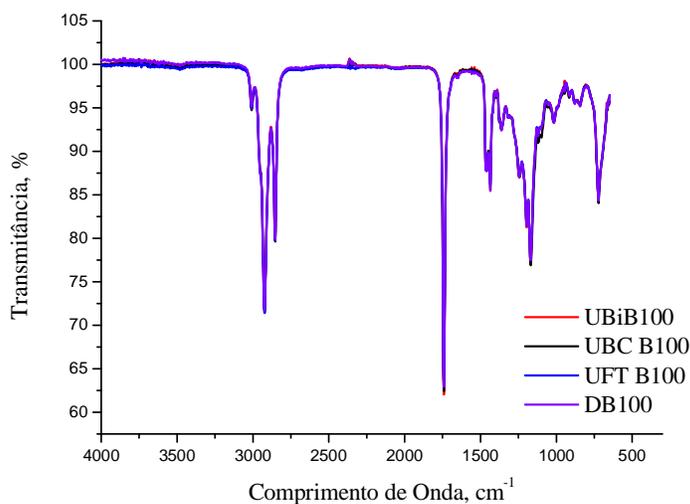
Em relação ao biodiesel da distribuidora (DB100), esperava-se maior variedade de ésteres devido ao recebimento de biodiesel de diferentes usinas com matérias primas diversificadas. Contudo, nota-se que sua composição é similar àquelas obtidas na usina, porém com a diferença de possuir o pentadecanoato e heptadecanoato de metila, característicos de biodiesel de gordura bovina (MITTELBAACH E SCHOBAR, 2003; CUNHA et al., 2009).

Acredita-se que se houve a presença de produtos de degradação nas amostras de biodiesel, tais como cetonas, aldeídos, ácidos carboxílicos que poderiam promover a formação de sedimentos, estas não foram detectadas pelo método de CG-EM.

5.1.2 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (IV)

Os espectros de absorção na região do IV dos biodieseis provenientes da usina (UFT B100, UBIB100 e UBC B100) e da distribuidora (DB100) são mostrados na Figura 5.1.

Figura 5.1 – Espectros na região de infravermelho das amostras de biodiesel coletadas na usina e na distribuidora



Fonte: Próprio autor

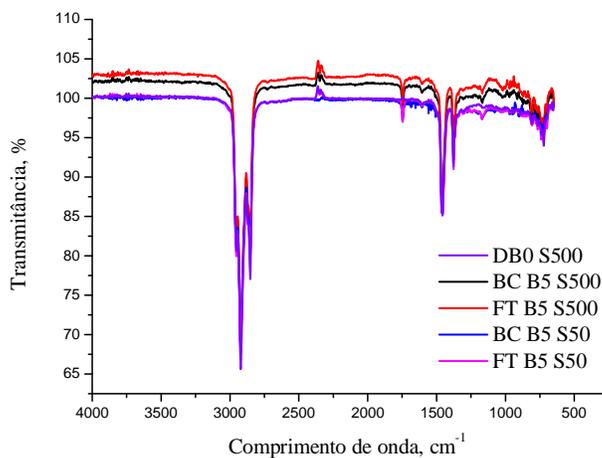
As absorções apresentadas na Figura 5.1 são intensas em 1742 cm^{-1} , referentes ao estiramento do grupo (C=O) da carbonila e médias C–O em 1167 cm^{-1} da parte acídica e 1435 cm^{-1} da parte alcoólica dos ésteres. Verifica-se em 2924 cm^{-1} e 2853 cm^{-1} ,

respectivamente, vibrações axiais assimétricas e simétricas e em 1462 cm^{-1} deformação no plano tipo tesoura de metilenos. Em 3009 cm^{-1} e 721 cm^{-1} , respectivamente, há a presença do estiramento de $=\text{C}-\text{H}$ e sobreposição das deformações tesoura de $=\text{C}-\text{H}$ bissubstituído tipo *cis* com a deformação *rocking* de CH_2 .

Observa-se entre as amostras de B100 que suas absorções na região de infravermelho se sobrepõem, sugerindo que não há diferenças visíveis em suas estruturas químicas. Este resultado é contrário ao que se esperava pelo menos entre UBC B100 e UFT B100, já que as amostras coletadas em nível de fundo do tanque de armazenamento podem interagir com a água do ambiente, alterar suas propriedades e promover reações químicas, degradando o combustível (RODRÍGUES-RODRÍGUES et al., 2010).

A Figura 5.2 mostra o espectro na região do infravermelho do diesel DB0 S500, que é tipicamente composto por hidrocarbonetos, principalmente alcanos, já que esta amostra se trata de diesel puro. Há a presença de estiramentos da ligação $\sigma\text{ sp}^3\text{-s}$ de C-H em 2853 cm^{-1} . Observa-se estiramento assimétrico e simétrico em 2922 cm^{-1} e 2853 cm^{-1} , respectivamente, e deformação *rocking* associado à banda de cadeia longa em 720 cm^{-1} referente a grupos metilênicos. Na faixa de 1495 cm^{-1} a 1420 cm^{-1} , observa-se a sobreposição das deformações tipo tesoura de metileno (1465 cm^{-1}) com a de metílico assimétrico (1450 cm^{-1}). A absorção em 1377 cm^{-1} se refere à deformação simétrica tipo tesoura do grupo metila.

Figura 5.2 – Espectros na região de infravermelho das amostras de diesel coletadas na distribuidora e nos postos



Fonte: Próprio autor

As amostras T1 S500, F1 S500, T2 S50 e F2 S50 têm as mesmas absorções descritas para o DB0 S500 com a adição dos estiramentos de C=O em 1747 cm^{-1} e C-O na região entre 1187 cm^{-1} e 1134 cm^{-1} referentes aos 5% de biodiesel misturado ao diesel (Figura 5.2).

Análogo às amostras de B100, verificou-se que não há alterações significativas entre os B0 e B5 coletadas no fundo de tanque de armazenamento e na bomba de combustível, pois as absorções foram similares, apesar das diferenças entre as transmitâncias. Desta forma, acredita-se que caso haja a presença de produtos de degradação que possam promover sedimentos no diesel e sua mistura com biodiesel, este método de absorção na região do IV não os detectou.

5.2 Aspecto e cor dos combustíveis

A Figura 5.3 ilustra a fotografia das amostras de biodiesel coletadas na usina experimental. É possível ver que UFT B100 foi a amostra mais escura e turva por provavelmente se ter a presença de produtos de degradação, que não foram detectados por CG-EM e IV, ou pela absorção de ferro (AQUINO, 2012) proveniente do tanque de armazenamento que é em aço carbono. UBiB100 é laranja claro, límpida e isenta de impurezas, assim como UBC B100, que é laranja escuro.

Figura 5.3 – Aspecto e cor das amostras de biodiesel da usina. Da esquerda para a direita: UFT B100, UBiB100 e UBC B100



Fonte: Próprio autor

A cor de DB100 é amarela, límpida e isenta de impurezas, como elucidado na Figura 5.4. Em comparação às amostras UBiB100 e UBC B100, DB100 é mais clara, sugerindo que as amostras da usina estavam iniciando processo de degradação ou absorvendo o ferro do tanque de armazenamento (AQUINO, 2012), cuja coloração pode ser repassada para o combustível retirado da bomba de abastecimento.

Figura 5.4 - Aspecto e cor das amostras da distribuidora. Da esquerda para a direita: DB100 e DB0 S500



Fonte: Próprio autor

DB0 S500 (Figura 5.4), FT B5 S500 e BC B5 S500 (Figura 5.5) estão em conformidade com a Resolução ANP n.º 65/2011 (BRASIL, 2011) em que o corante do diesel S500 tipo A e B deve ser de cor vermelha e seu aspecto, límpido e ausente de impurezas.

Figura 5.5 – Aspecto e cor das amostras FT B5 S500 e BC B5 S500, da esquerda para direita



Fonte: Próprio autor

Os diesel das amostras FT B5 S50 e BC B5 S50 estão ilustradas na Figura 5.6. FT B5 S50 possui algumas partículas de areia, mas que são retidas pelo filtro de óleo, que é montado antes da bomba de combustível, fazendo com que BC B5 S50 se torne livre de impurezas e esteja conforme com a Resolução ANP n°. 65/2011 (BRASIL, 2011) em que a cor do corante para diesel com 50 ppm de enxofre deve ser amarela e se apresentar límpida e ausente de impurezas.

Figura 5.6 – Aspecto e cor de FT B5 S50 e BC B5 S50, da esquerda para a direita



Fonte: Próprio autor

5.3 Parâmetros físicos e químicos dos combustíveis

A Tabela 5.2 indica os resultados das análises de índice de acidez (IA), ponto de névoa (PN), ponto de fluidez (PF), ponto de entupimento de filtro a frio (PEFF), massa específica (ME) a 20 °C, viscosidade cinemática (VC) a 40 °C e lubricidade (Lub) para todos os combustíveis e adicionalmente para o diesel o teor de biodiesel (TE) e enxofre total (ET).

Tabela 5.2 - Parâmetros físicos e químicos para as amostras de diesel e biodiesel.

			IA, mg KOH g ⁻¹	PN, °C	PF, °C	PEFF, °C	ME, kg m ⁻³	VC, mm ² s ⁻¹	Lub, mm	TB, %	ET, mg kg ⁻¹	
Limites da ANP			0,50 máx.	-	-	19 (1)	(2)	3,0-6,0	520 máx.	4,5-5,0	(3)	
Usina	Experi-	mental	UBiB100	0,47±0,01	2±0	-1±0	-2±0	888,0±0,2	6,3±0,1	192	-	-
			UBC B100	0,54±0,00	0±0	0±0	5±0	882,6±0,2	4,9±0,0	184	-	-
			UFT B100	0,62±0,02	ND	0±1	-2±0	884,1±0,1	5,0±0,0	211	-	-
Distri-	buido	ra	DB100	0,28±0,00	5±2	5±2	2±0	881,3±0,1	4,7±0,1	189	-	-
			DB0 S500	0,03±0,00	6±1	4±0	6±0	836,7±0,0	3,4±0,0	393	0	172±10
Postos			BC B5 S500	0,14±0,00	-5±0	-10±0	-7±0	840,4±0,0	2,7±0,1	174	4,7±0,2	266±13
			FT B5 S500	0,11±0,00	-5±0	-10±0	-6±0	837,7±0,2	2,8±0,0	179	4,7±0,5	229±17
			BC B5 S50	0,03±0,00	-13±0	-20±1	-17±0	839,9±0,0	2,7±0,0	172	4,9±0,3	34±9
			FT B5 S50	0,02±0,00	-12±0	-20±1	-17±0	840,6±0,1	2,8±0,0	177	4,8±0,5	13±4

Fonte: Próprio autor

ND = Não detectado

(1) Região Nordeste.

(2) Para biodiesel: 850-900 kg m⁻³; diesel A e B S500: 820-865 kg m⁻³; diesel A e B S50: 820-850 kg m⁻³.

(3) Para diesel A e B S500: máx. 500 mg kg⁻¹; Para diesel A e B S50: 50 mg kg⁻¹

5.3.1 Índice de Acidez (IA)

Visualiza-se que os valores do IA das amostras UBiB100, UBC B100 e UFT B100 são crescentes nesta sequência. Isto pode ser justificado pelo fato de que UBiB100 ter sido proveniente do reator de pós-lavagem de biodiesel da usina experimental. Logo, acredita-se que a possível presença residual de álcalis da reação de transesterificação tenha diminuído numericamente a quantidade de íons hidrônio livres que provocam a acidez (Seção 4.2.4) em comparação a UBC B100, que foi retirado da última etapa do processo produtivo deste estabelecimento: que é o repasse do produto para os distribuidores de combustíveis locais.

Como esperado, a acidez de UFT B100 foi a maior dentre estas amostras por ter sido retirada do fundo do tanque de armazenamento, cuja concentração de produtos degradados – como ácidos graxos livres e produtos polimerizados – costuma ser maior do que nas demais regiões do tanque pela maior probabilidade de ocorrer reações hidrolíticas.

Comparando-se a acidez do biodiesel da distribuidora com o da usina, DB100 possui valor inferior, pois se supõe que a fornecedora deste possua padrões de qualidade mais restritos do que a outra, permitindo um valor mais aceitável para a utilização deste combustível ou que a prática de drenagem periódica dos tanques de armazenamento da distribuidora (Tabela 4.1) removam possíveis agentes redutores de combustíveis e regulem este parâmetro, uma vez que esta técnica não é praticada na usina experimental.

Examinando os dados obtidos para o diesel, verifica-se possivelmente que o biodiesel (DB100) pode elevar o valor da acidez do diesel tipo B S500 (BC B5 S500 e FT B5 S500), já que estes possuem valores que podem representar a média entre DB100 e o DB0 S500 quando misturados nos caminhões tanque na distribuidora.

Ao analisar as amostras de diesel S500 com o S50, percebe-se uma variação significativa na acidez. Uma possível justificativa para tal seria o teor de enxofre reduzido no diesel B S50, tornando-os menos ácidos (ou mais “doces”) do que o outro, como observado por Sharafutdinov et al. (2012). Outra vertente de avaliação pode ser a da prática de drenagem do tanque utilizada pelo posto que cedeu as amostras BC B5 S50 e FT B5 S50 (Tabela 4.1), cuja ação não é aplicada no posto em que se coletou BC B5 S500 e FT B5 S500.

Diferente da expectativa, as amostras dos fundos dos tanques (FT B5 S500 e FT B5 S500) têm IA menores do que as retiradas das bombas (BC B5 S500 e FT B5 S500). Isso deve ser consequência de produtos acumulados nos filtros de combustíveis dos postos – que estão colocados após o tanque de armazenamento e antes da bomba de combustível – que podem estar acidificando o produto, sugerindo como boa prática de trabalho a limpeza ou troca periódica desta membrana filtrante.

5.3.2 Propriedades de fluxo a frio: Ponto de Névoa (PN), Ponto de Fluidéz (PF) e Ponto de Entupimento de Filtro à Frio (PEFF)

O PN é o parâmetro contido na norma ASTM D 6751, enquanto que o PEFF é o parâmetro especificado na Norma Brasileira (NBR 14747) e na Norma Europeia (EN 14214) para biodiesel. O PN pode ser correlacionado com os testes de PEFF. Porém o PN é mais exigente, pois se refere à temperatura em que se inicia a formação dos sólidos no combustível, enquanto que o PF indica o ponto de congelamento de toda a amostra. Já o PEFF por simular o limite de operabilidade de um motor, sugere a temperatura mais baixa que o combustível flui sem restrições.

Desta forma, a Tabela 5.2 ilustra que o PN e PF das amostras provenientes da usina não apresentaram diferenças significativas, enquanto que o PEFF de UBiB100 foi maior do que UBC B100 e UFT B100. Possivelmente isto tenha ocorrido devido o UBiB100 possuir viscosidade cinemática (Seção 5.3.3) superior às demais amostras e, assim, ter interferido no PEFF, já que este equipamento utiliza pressão para determinar a menor temperatura de fluidização.

Logo, quanto maior a viscosidade cinemática, maior o tempo de sucção da amostra de um ponto a outro no equipamento e maior a temperatura de PEFF. Diferente do funcionamento do PN e PF que enquanto vai ocorrendo à diminuição da temperatura no equipamento, um sensor de infravermelho acompanha o início da turbidez e um detector determina o congelamento completo da amostra.

Maiores temperaturas de PN, PF e PEFF são encontrados para DB100 em comparação a UBiB100, UBC B100 e UFT B100, provavelmente pela presença de ésteres saturados de pentadecanoato e o heptadecanoato de metila, uma vez que os parâmetros de fluxo também sofrem influência da matriz. Ou seja, quanto maior as concentrações de cadeias saturadas e quão maiores forem, maior a temperatura de cristalização em comparação às cadeias insaturadas (KNOTHE, 2005).

Comparando-se as condições bomba e fundo de tanque não há variações consideráveis de temperatura para PN, PF e PEFF. Porém, visualiza-se que BC B5 S500 e FT B5 S500 têm temperaturas mais altas para restrição de seu fluxo do que BC B5 S50 e FT B5 S50 provavelmente devido a menor quantidade de enxofre nestas amostras – como observado nos estudos de Tan et al. (2009) e Sharafutdinov et al. (2012) – ou às características dos hidrocarbonetos (STANISLAUS et al., 2010) ou ésteres (KNOTHE, 2005) presentes nestes diesel.

5.3.3 *Massa Específica (ME) a 20 °C e Viscosidade Cinemática (VC) a 40 °C*

Como anteriormente discutido na Seção 5.2.1, verifica-se que a possível presença de álcalis residuais da transesterificação pode estar interferindo no valor da ME da amostra UBiB100 em comparação com UBC B100, que é próxima a de UFT B100 provavelmente por não haverem diferenças nas composições das mesmas.

Observa-se que os valores de ME dos B0 e B5 são numericamente inferiores aos B100, possivelmente pela presença de oxigênio na cadeia carbônica dos ésteres que contém entre 12 e 22 carbonos, enquanto que o diesel possui em sua estrutura hidrocarbônica entre 10 e 16 carbonos (Seção 3.3).

Entre os B5, seus resultados de ME são muito próximos e as diferenças entre as amostras de fundo de tanque e bomba de combustível não são muito grandes, sugerindo uma estabilidade entre os diferentes níveis de escoamento presentes em postos.

As tendências observadas para a ME também são verificadas nos dados de VC, como a sequência UBC B100 < UFT B100 < UBiB100; que o biodiesel é mais viscoso do que o diesel; e que as diferenças entre os valores obtidos não são significativas para BC B5 S500, FT B5 S500, BC B5 S50 e FT B5 S50.

5.3.4 *Lubricidade*

De acordo com a ASTM D6079, a lubricidade é um termo qualitativo que descreve a habilidade de um fluido em movimento de promover atrito e desgastar superfícies sob determinada carga. Desta forma, quanto maior o número de cicatrizes (riscos) promovidas pela bola de aço em contato com a amostra (Seção 4.2.10) na superfície padrão, menor o poder lubrificante do fluido.

Como esperado, UFT B100 possui uma ação lubrificante menor do que UBiB100 < UBC B100, pois se acredita que no fundo dos tanques haja maior concentração de ácidos graxos livres e produtos poliméricos que possam estar aumentando sua tensão superficial.

Já em relação UBiB100 < UBC B100, possivelmente a presença de água e resíduos alcalinos da transesterificação esteja influenciando a lubricidade da amostra.

Os valores de UBC B100 e DB100 foram bem próximos demonstrando que os ésteres têm propriedades lubrificantes parecidas e melhores do que UBiB100 e UFT B100.

Em relação a DB0 S500, observou-se a menor lubricidade de todas as amostras.

Comparando-se FT B5 S500 e FT B5 S50 com BC B5 S500 e BC B5 S50 é possível analisar que estas são mais lubrificantes do que aquelas. Provavelmente isto ocorreu devido à presença do filtro de combustível antes da bomba, que deveria reter as impurezas provenientes do tanque, mas que por possivelmente estar saturado, pode ter contaminado com enxofre os combustíveis que passam pela bomba (Seção 5.3.5) e, assim, melhorado a lubricidade (KNOTHE, 2005).

Em relação ao B5 com 50 e 500 ppm de enxofre, não foi observado variações significativas entre FT B5 S500 com FT B5 S50 e BC B5 S500 com BC B5 S50, já que se esperava que a lubricidade de BC B5 S50 e FT B5 S50 fosse menor do que BC B5 S500 e FT B5 S500, pois o processo de dessulfurização do diesel reduz ou elimina compostos sulfurosos polares e não polares que melhorariam a lubricidade inerente do diesel (KNOTHE, 2005).

Como característica reportada na literatura por Hu et al. (2005) e Muñoz et al. (2011), visualiza-se que o biodiesel puro como UBC B100 e DB100 atua como melhoradores de lubricidade no diesel puro (DB0 S500), por diminuir o desgaste das misturas diesel/biodiesel, como observado em BC B5 S500, BC B5 S50, FT B5 S500 e FT B5 S50, com a finalidade de melhorar

5.3.5 Teor de Biodiesel (TB) e Enxofre Total (ET)

Os TB nas amostras de diesel estão de acordo com a Resolução ANP n°. 14/2012 (BRASIL, 2012), cuja concentração de B100 deve ser de $5,0 \pm 0,5$ %.

Em relação aos ET, todos estão conformes de acordo com o valor denominado para os respectivos combustíveis. Observou-se curiosamente que as amostras de fundo

de tanque (FT B5 S500 e FT B5 S50) possuem menos enxofre do que as coletadas na bomba de combustível (BC B5 S500 e BC B5 S50), provavelmente pelos filtros dos postos estarem saturados de impurezas e estar repassando-as para a “última” etapa de distribuição de combustíveis, que é aquela que chega ao consumidor final.

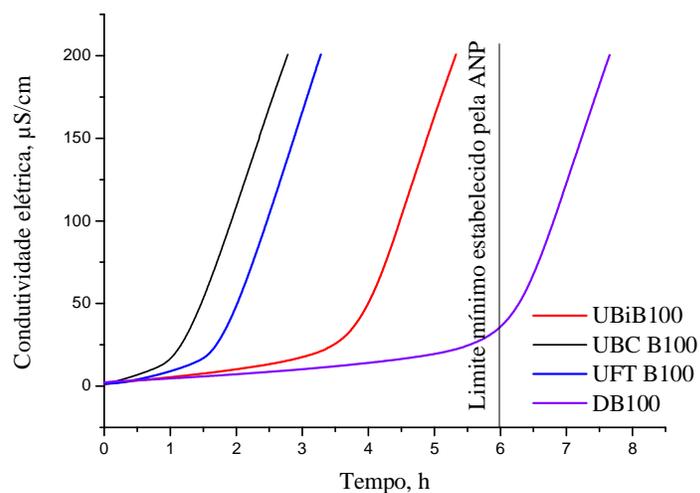
5.4 Estabilidade oxidativa

5.4.1 Método de oxidação acelerada para biodiesel por Rancimat

Especificado pela Norma Europeia EN 14112 e adotada para avaliação da estabilidade oxidativa de biodiesel pela ANP, o método de oxidação acelerada por Rancimat tem por princípios a determinação do período de indução (PI) – tangente da curva condutividade elétrica pelo tempo –, que é obtido pela oxidação da amostra, que por sua vez forma produtos de oxidação voláteis – como ácidos carboxílicos, cetonas e peróxidos (JAIN e SHARMA, 2010b) – que quando entram em contato com a água deionizada, eleva bruscamente sua condutividade. De acordo com a Resolução ANP n°. 14/2012, o PI mínimo para amostras de biodiesel é de 6h.

Os valores das estabilidades à oxidação das amostras de biodiesel da usina e da distribuidora estão ilustrados na Figura 5.7.

Figura 5.7 – Curvas de oxidação acelerada por Rancimat para biodiesel.



Fonte: Próprio autor

Observa-se que a amostra UBC B100 é a menos estável de todas, com PI de 1 ± 0 hora. Enquanto que UFT B100 e UBiB100 mostraram PI de 2 ± 0 h e 4 ± 0 h, respectivamente. Este comportamento pode ser explicado pela acidez de UBiB100 ser inferior às outras por causa da possibilidade de haver hidróxidos residuais (proveniente da reação de transesterificação). Em relação ao PI de UFT B100, acredita-se que pode haver produtos de degradação mais estáveis do que o UBiB100.

O biodiesel coletado na distribuidora (DB100) teve PI de 6 ± 0 horas, sendo o único B100 dentre todos os coletados que atingiu o PI mínimo de 6h especificado pela ANP devido à presença de antioxidantes, que prolongam a estabilidade à oxidação (JAIN e SHARMA, 2010a) e que não foram adicionados a UBiB100, UBC B100 e UFT B100 (Tabela 4.1).

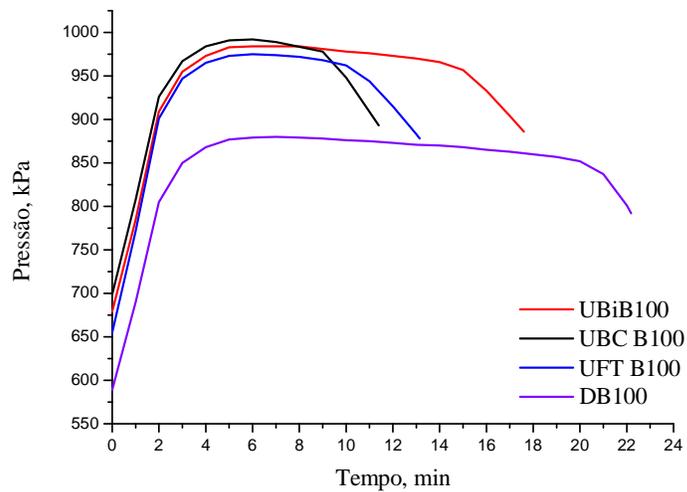
Não foi realizada a metodologia de oxidação acelerada por Rancimat nos B0 devido à sua resistência à oxidação por volatilização, que é o princípio deste método. De acordo com Wierzbicki (2010) amostras de diesel têm IP superiores a 22 h e com repetitividade pouco satisfatória pelo Rancimat. Desta forma, adotou-se para a avaliação da estabilidade oxidativa destes o PetroOXY.

5.4.2 Método de oxidação acelerada por PetroOXY

Padronizada pela norma ASTM D7545, o método de oxidação acelerada pelo PetroOXY tem por objetivo determinar o PI do biodiesel, diesel e suas misturas em um período menor de análise em comparação ao Rancimat (WIERZBICKI, 2010).

Por se tratar de um ensaio em que a amostra é pressurizada em uma célula selada hermeticamente, pode-se avaliar o PI de substâncias voláteis, como gasolina, sem que haja perda destes componentes. No PetroOXY, o PI é determinado como o tempo em que se inicia a análise até a queda de 10% da pressão máxima atingida no equipamento, enquanto este aquece até a temperatura previamente estabelecida.

Figura 5.8 – Curvas de oxidação acelerada por PetroOXY para biodiesel

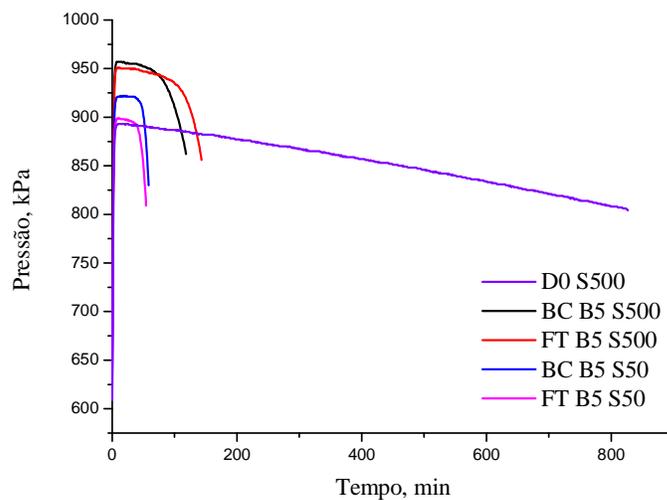


Fonte: Próprio autor

A Figura 5.8 ilustra o mesmo perfil de PI encontrado no Rancimat para as amostras de biodiesel: DB100 (22±0 minutos) > UBiB100 (17±0 minutos) > UFT B100 (13±0 minutos) > UBC B100 (11±0 minutos).

A Figura 5.9 elucida o gráfico que representa os PI das amostras de diesel.

Figura 5.9 - Curvas de oxidação acelerada por PetroOXY para diesel.



Fonte: Próprio autor

Observa-se que DB0 S500 é o mais estável à oxidação com PI de 736 ± 45 minutos (aproximadamente 14 horas), provavelmente por não conter biodiesel em sua composição, ao contrário das demais (Figura 5.9).

BC B5 S500 e FT B5 S500 possuem 112 ± 3 e 137 ± 3 minutos de PI, respectivamente (Figura 5.9). Esse resultado pode ter sido devido a possíveis impurezas ou produtos oxidativos presentes no fundo do tanque e que são mais estáveis do que o diesel após a filtração.

O comportamento de as amostras de fundo de tanque serem mais estáveis do que as da bomba de abastecimento também foi verificado nos B5 S50, em que BC B5 S50 e FT B5 S50 tiveram PI de 58 ± 0 e 54 ± 0 minutos, nesta ordem (Figura 5.9).

Verificou-se também que BC B5 S500 e FT B5 S500 foram mais estáveis à oxidação do que BC B5 S50 e FT B5 S50, cujo comportamento é atribuído pela maior concentração de enxofre nos primeiros, já que este elemento atua como antioxidante natural do diesel, prevenindo a formação de ácidos e borras (KARAVALAKIS et al., 2010).

Como esperado, os dieséis foram mais estáveis à oxidação do que o biodiesel. Isto pode ser explicado pelos compostos insaturados, que estão mais presentes no biodiesel, serem mais susceptíveis à oxidação (JAIN E SHARMA, 2010a). Além disso, os primeiros produtos oxidados originados do diesel tendem a aumentar suas massas molares (WESTBROOK e LECREN, 2003) e, assim, aumentar ainda mais a pressão inicial na célula hermética do equipamento, aumentando o tempo de análise, ao contrário do que se observa para o biodiesel (Seção 3.3).

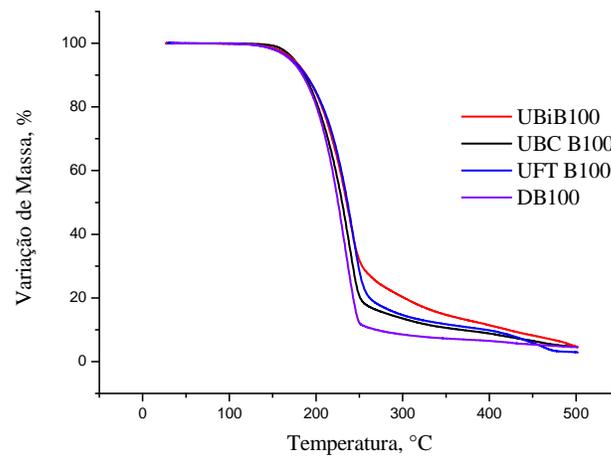
5.5 Análise térmica por termogravimetria (TG)

A análise térmica por TG tem por princípio a perda ou ganho de massa da amostra em função da temperatura (modo não isotérmico) ou tempo (modo isotérmico) em condições de trabalho previamente estabelecidas (JAIN e SHARMA, 2010b).

As variações de massa ocorrem devido a eventos entálpicos, ou seja, processos físicos e/ou químicos, como a oxidação e a combustão, que ocorram na amostra, embora a etapas calorimétricas sejam analisadas pela Análise Térmica Diferencial (DTA) ou pelo Calorímetro Exploratório Diferencial (DSC).

A Figura 5.10 mostra as curvas termogravimétricas das amostras de biodiesel em condição de ar sintético. As temperaturas *onset* para UBiB100 foi de 198 °C, UBC B100 foi de 196 °C, UFT B100 teve 204 °C e DB100, 196 °C. Acredita-se que estas amostras de biodiesel tenham perfis termogravimétricos iniciais muito semelhantes que podem ser confirmados pelos espectros na região do IV (Seção 5.1.2).

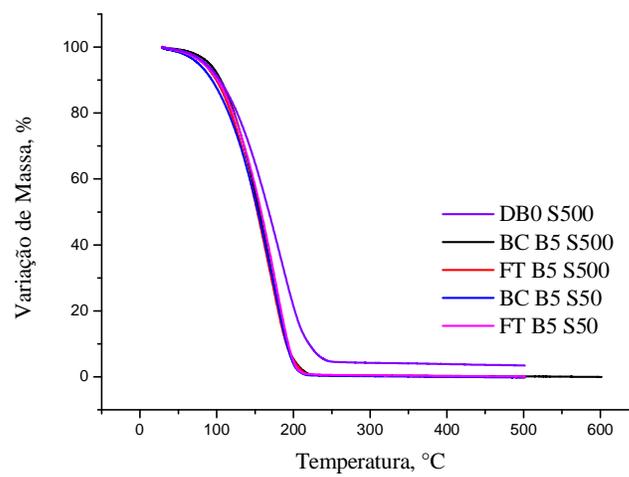
Figura 5.10 – Curvas termogravimétricas para as amostras de biodiesel



Fonte: Próprio autor

O perfil termogravimétrico dos diesel são ilustrados na Figura 5.11.

Figura 5.11 – Degradação térmica para as amostras de diesel



Fonte: Próprio autor

As temperaturas *onset* para DB0 S500 foi 111 °C, BC B5 S500 teve 96 °C, 93 °C para FT B5 S500, BC B5 S50 foi de 95 °C e 102 °C para FT B5 S50 (Figura 5.11). Estas temperaturas podem corresponder à combustão dos primeiros 5% de perda de massa na TG, que está correlacionada aos 5% da temperatura de destilação de acordo com Lang et al. (2001). As perdas de massa das amostras ocorreram em uma única etapa. Desta forma, acredita-se que estas amostras de tenham o mesmo comportamento termogravimétrico pelas suas estruturas serem semelhantes nas absorções obtidas na região de infravermelho e estas temperaturas serem muito próximas uma das outras.

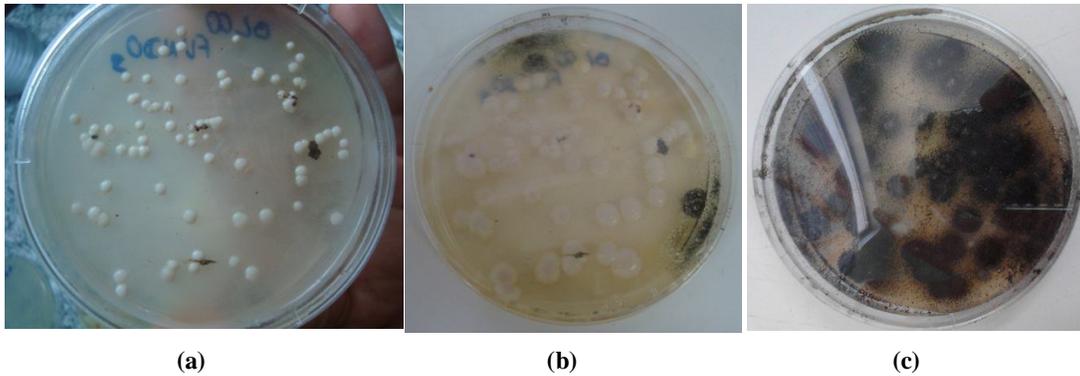
Observa-se que o biodiesel (Figura 5.10) é termicamente mais estável do que o diesel (Figura 5.11). Isto se justifica pelo fato de que o diesel é composto por aromáticos e moléculas saturadas com 10 a 16 carbonos, tornando-o mais volátil do que o biodiesel, que possui entre 14 e 22 carbonos, além da presença de oxigênio na estrutura do éster (RODRÍGUEZ et al., 2009). Desta forma, acredita-se que viscosidades e massas específicas mais altas do biodiesel (Seção 5.3.3) possam contribuir para diminuir o processo de evaporação (LUJAJI et al., 2010).

5.6 Crescimento, isolamento e identificação microbiológico

5.6.1 Crescimento de microrganismos em placa de Petri

Dentre as amostras de diesel e biodiesel coletadas, observou-se que a única amostra que apresentou crescimento em placa de Petri (meio sólido) em até 7 dias foi o UFT B100 (Figura 5.12).

Figura 5.12 - Crescimento das colônias de UFT B100 em (a) 7 dias, (b) 15 dias e (c) 30 dias.

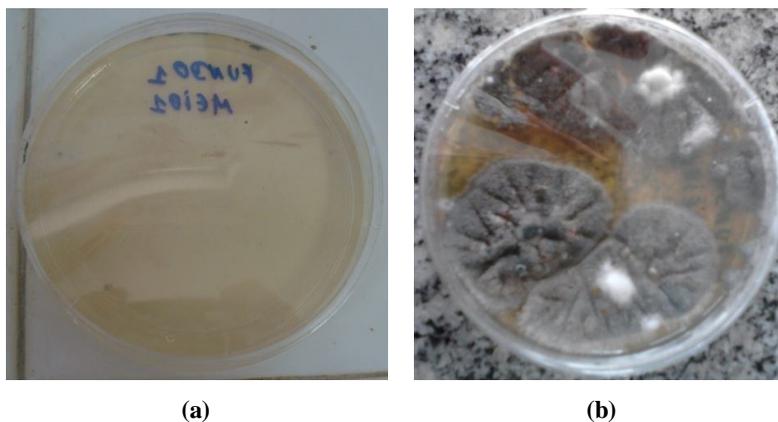


Fonte: Próprio autor

Como mostrado na Figura 5.12 (a) UFT B100 apresentou aspecto esbranquiçado, liso, molhado e pegajoso. A Figura 5.12 (b) ilustra o 15º dia de crescimento, com colônias esbranquiçadas maiores do que no 7º dia e com as bordas da placa com início de escurecimento em forma de flóculos. A Figura 5.12 (c) ilustra o 30º dia de crescimento deste microrganismo em UFT B100 em que os flóculos negros cobrem antiga colônia esbranquiçada.

FT B5 S500 apresentou crescimento entre 16 e 30 dias após a inoculação da amostra na placa, já que a Figura 5.13 (a) e (b) elucidam o 15º e 30º dia do inóculo, respectivamente, em que inicialmente há ausência de colônias, porém depois se verifica um aspecto rugoso e negro com pontos brancos que lembram algodão, indicando a presença de fungos.

Figura 5.13 – Crescimento em FT B5 S500 da colônia em (a) 15 dias e (b) 30 dias

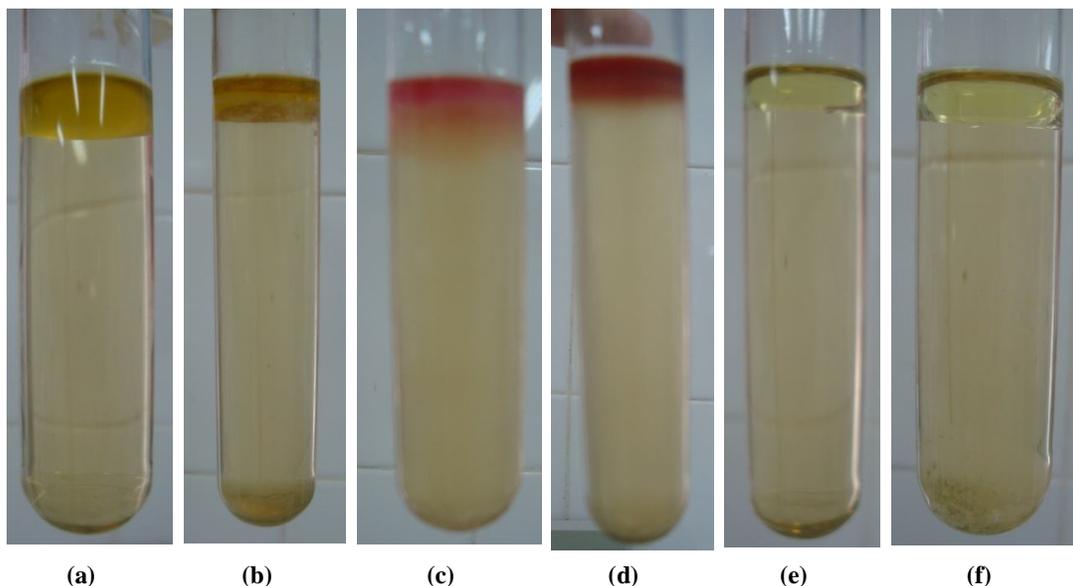


Fonte: Próprio autor

5.6.2 Crescimento de microrganismos em caldo

O crescimento dos microrganismos em caldo sabouraud favoreceu seu aparecimento nas amostras de UBC B100 (Figura 5.14 (a)) com formação de sedimentos como névoa; UFT B100 (Figura 5.14(b)) com formação de emulsão branca e de sedimentos; BC B5 S500 (Figura 5.14(c)) com aparecimento da interface óleo – meio de cultura mais o sedimento, assim como encontrado na Figura 5.14 (d) para FT B5 S500; BC B5 S50 e FT B5 S50 nas Figura 5.14 (e) e (f), respectivamente, com formação de uma leve névoa no fundo do tubo de ensaio.

Figura 5.14 - Tubos de ensaio com as amostras (a) UBC B100, (b) UFT B100, (c) BC B5 S500, (d) FT B5 S500, (e) BC B5 S50 e (f) FT B5 S50.



Fonte: Próprio autor

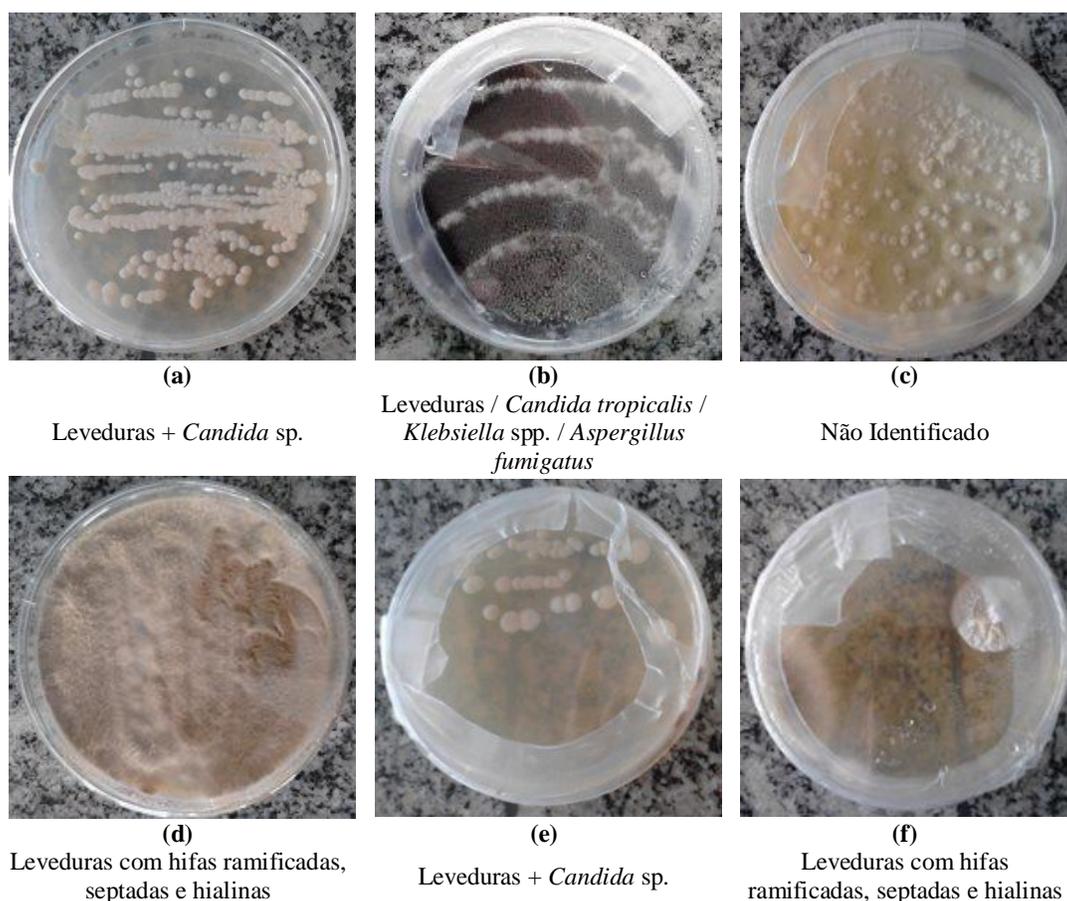
Provavelmente a interface óleo-água não tenha aparecido nas amostras de diesel S50 devido ao tanque de combustível ter sido limpo ou novo por ter se tratar de um combustível implantado recentemente. Ao contrário da substituição do diesel S1800 pelo S500, cujo tanque de armazenamento não fora substituído ou limpo. Desta forma, resíduos de degradação podem ter influenciado na formação desta interface.

As amostras de biodiesel na produção (UBiB100), biodiesel (DB100) e diesel (DB0 S500) da distribuidora não apresentaram crescimento microbiano. Provavelmente isto aconteceu pelo tempo de armazenamento ser pequeno nestes locais e pela prática de drenagem dos tanques realizada na distribuidora.

5.6.3 Isolamento dos microrganismos encontrados nos caldos e suas identidades

A Figura 5.15 ilustra as placas de Petri inoculadas com os caldos que apresentaram atividade microbiana, como descrito na Seção 5.5.2, e suas identificações.

Figura 5.15 – Isolamento e identificação dos microrganismos de (a) UBC B100, (b) UFT B100, (c) BC B5 S500, (d) FT B5 S500, (e) BC B5 S50 e (f) FT B5 S50.



Fonte: Próprio autor

Observa-se na Figura 5.15 (a) que a aparência de UBC B100 foi similar àquela encontrado para o UFT B100 (Figura 5.12 (a)), com aspecto esbranquiçado, liso, molhado e pegajoso. Tanto UFT B100 que anteriormente fora inoculada em placa de Petri (Figura 5.12) quanto UBC B100 acusaram a presença de *Candida* sp., responsável pelo aspecto apresentado.

Diferentes alíquotas de UFT B100 foram postas no caldo sabouraud e, visualmente, mostraram as mesmas características da Figura 5.14 (b). Contudo, estes isolados apresentaram aspectos como os da Figura 5.15 (a) para UBC B100, cujas características foram esbranquiçadas, lisas, molhadas e pegajosas, identificadas como leveduras em geral, fungos da espécie *Candida tropicalis* e bactérias do gênero *Klebsiella sp.* Outro isolado de UFT B100 se mostrou com aspecto floculado negro, seco e rugoso como ilustrado na Figura 5.15 (b), que foi identificado como o fungo da espécie *Aspergillus fumigatus*.

O(s) microrganismo(s) que promoveu(ram) a aparência leitosa com relevos arredondados como ilustrados na Figura 5.15 (c) em BC B5 S500 não foi(ram) identificado(s) por dificuldade de este(s) se enquadrar(em) nos parâmetros dos testes fisiológicos e microscópicos utilizados e descritos na Seção 4.3.1.

BC B5 S50 (Figura 5.15 (e)) teve o crescimento de leveduras e de *Candida sp.* com aparência similar à obtida para o UFT B100 nos 7 primeiros dias de inoculação (Figura 5.12 (a)).

FT B5 S500 e FT B5 S50 apresentaram crescimento de leveduras de corpo fungíco (hifa) ramificado, incolor (hialino), dividido em compartimentos (septados) para suportar a sua matéria unicelular. Apesar de seus aspectos diferentes, pois enquanto FT B5 S500 (Figura 5.15 (d)) tem aspecto de tapete e cor marrom em toda a placa de Petri, FT B5 S50 se mostrou com um núcleo branco e rugoso (Figura 5.15 (f)).

Os fungos *Candida sp.*, identificados como contaminante das amostras UBC B100, UFT B100 e BC B5 S50, e *Aspergillus fumigatus*, da amostra UFT B100, também foram isolados e identificados no trabalho desenvolvido por Bento et al. (2005) em diesel puro e Bückler et al. (2011) em B0, B5, B10, B20 e B100.

Bento e colaboradores (2005) indicaram que *A. fumigatus* seria um dos maiores contaminantes de diesel puro com elevadas degradações de hidrocarbonetos em comparação com a *C. silvicola*, por exemplo. *A. fumigatus* formou biomassa na interface óleo-água em B0 e produziu quase três vezes mais biomassa no B100 do que no B0, enquanto que *C. silvicola* apresentou degradação total de todos os ésteres do biodiesel de soja (BÜCKER et al., 2011).

Duas bactérias do gênero *Klebsiella sp.* foram reportadas por Chao et al. (2010) como contaminantes de B5. Verificou-se que a *Klebsiella oxytoca* foi a responsável pela formação de exopolissacarídeos no B5 e que na simulação do ambiente em que este combustível ficava armazenado, este microrganismo apresentou biomassa na interface

óleo-água e sedimentos, enquanto que a *Klebsiella nov. sp.*, nestas condições, apresentou formação de sedimentos. Sugerindo que estas formações provenientes destes microrganismos que as seriam responsáveis pelos entupimentos dos filtros de combustíveis do Porto de Seattle nos Estados Unidos da América.

Capítulo 6
Conclusões

6 CONCLUSÕES

As composições determinadas por CG-EM dos biodieseis coletados são similares, assim como suas estruturas químicas de acordo com IV, apesar de o aspecto e as cores serem diferentes, sugerindo presença de compostos de oxidação neste biocombustíveis quando escuros. As absorções na região do IV dos dieseis também foram similares e não se diferenciaram pelos diferentes teores de enxofre.

As propriedades físicas e químicas dos biodieseis coletados estão conformes com as estabelecidas pela ANP para o biodiesel (Resolução n°. 14/2012), com exceção do índice de acidez das amostras da bomba (UBC B100) e do fundo do tanque (UFT B100) e da viscosidade cinemática do bico da usina experimental, provavelmente pela ausência da prática da drenagem no tanque e pelo tempo em que o biodiesel possa estar sendo armazenado.

Os parâmetros estabelecidos pela ANP através da Resolução n°. 65/2011 para diesel, tornam estes combustíveis coletados aptos para o abastecimento. Apesar de ter sido verificado que o biodiesel adicionado ao diesel aumente sua acidez, cuja propriedade foi inferior nos B5 S50 do que nos B5 S500, tal como nas propriedades de fluxo a frio.

As massas específicas, viscosidades cinemáticas e lubricidades foram próximas para as amostras de diesel. Embora se tenha observado que as maiores lubricidades foram as da bomba de abastecimento de B5, possivelmente pelo filtro de combustível estar saturado e permitir a migração do enxofre, que está em menores teores nos tanques, para os dieseis que saem pela bomba. Uma vez que o enxofre é um elemento que promove a lubricidade inerente deste derivado de petróleo, sugere-se que haja limpeza ou troca periódica destas membranas filtrantes.

Comparando os ensaios físicos e químicos dos B100, com B0 e os B5, observou-se que os valores numéricos destes “flutuam” na média dos resultados de B100 e B0, como a acidez, massa específica, viscosidade cinemática e lubricidade.

O comportamento oxidativo dos B100 pelo método de oxidação acelerada por Rancimat e PetroOXY foram os mesmos, tal que o biodiesel da distribuidora (DB100) foi o mais estável e atingiu o mínimo de 6 h estabelecido na Resolução n°. 14/2012 pelo método do Rancimat. A estabilidade de DB100 pode ser justificada pela presença de

aditivos antioxidantes e pela prática de drenagem dos tanques de armazenamento, que são rotinas não implantadas na usina experimental.

Como esperado, o comportamento oxidativo das amostras de diesel foram superiores às do biodiesel. DB0 S550 foi o mais estável, seguido das amostras com 500 ppm de enxofre (T1500 e FT B5 S500) e de 50 ppm de enxofre (BC B5 S50 e FT B5 S50).

A estabilidade térmica mostra que os perfis de decomposição dos biodieseis são similares, assim como os dos dieiseis, com a diferença de que estes se decompõem antes por suas cadeias serem menores do que as do biodiesel e que as viscosidades e massas específicas influenciem na evaporação.

Verificou-se que a presença de microrganismos no fundo dos tanques de armazenamento possa ser repassada para os combustíveis que atravessam as bombas de abastecimento. Reforçando a necessidade de se limpar e/ou trocar periodicamente os filtros combustíveis, que são colocados após os tanques e antes das bombas.

O biodiesel da usina experimental foi o que apresentou mais variedade de microrganismos. O fundo do tanque (UFT B100) apresentou colônias de leveduras em geral, como a *Candida tropicalis*, o bolor do *Aspergillus fumigatus* e a bactéria *Klebsiella* sp. Já na amostra da bomba de combustível da usina (UBC B100) houve o crescimento de leveduras e da *Candida* sp., que possivelmente não tenham sido retidas pelo filtro de combustível.

O repasse de leveduras do fundo do tanque para as bombas de abastecimento também foi observado nas amostras de B5 S500 e B5 S50. Logo, os microrganismos presentes no fundo dos tanques de armazenamento possam ser repassados para os combustíveis que atravessam as bombas de abastecimento, reforçando a necessidade de se limpar e/ou trocar periodicamente os filtros combustíveis, que são colocados após os tanques e antes das bombas.

Como recomendado, sugere-se que toda a logística de distribuição siga a Cartilha do Posto Revendedor de Combustíveis e a ABNT NBR 15512/2008 para prolongar o tempo de vida e a qualidade destes combustíveis. Isto porque se verificou que o biodiesel armazenado por três meses na usina experimental, sem a obediência a estas recomendações, foi a condição que apresentou maior número de não conformidades e promoveu mais microrganismos diferentes.

Não se observou diferenças significativas entre as amostras de fundo de tanque de armazenamento e bomba de abastecimento, principalmente nos postos. Ou seja, não

foi encontrada neste trabalho a formação de sedimentos e gomas no fundo dos tanques, possivelmente pela demanda de combustíveis ser considerada elevada e o tempo de armazenamento, pequeno.

Acredita-se principalmente que as baixas estabilidades oxidativa dos B100 da usina tenham sido influenciadas pela presença de microrganismos, tempo de armazenamento e ausência de antioxidantes.

Já em relação às amostras de B0 e B5, verifica-se que apesar da presença de microrganismos, estas amostras se apresentaram conformes de acordo com a Resolução ANP n°. 65/2011. Embora, supõe-se que caso diminua a frequência de abastecimento e aumente o período de armazenamento destas amostras nas distribuidoras e nos postos, provavelmente interfaces óleo-água e sedimentos possam aparecer, como os encontrados neste estudo.

Referências Bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, D. **O desafio do diesel S-50**. Disponível em: <<http://www.epama.com.br/o-desafio-do-diesel-s-50>>. Acesso em: 21 abr. 2012.

ANP. Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP). **Biocombustíveis**. Maio 2012. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/?id=470>>. Acesso em: 04 set 2012.

AQUINO, I. P. **Avaliação da corrosividade do biodiesel por técnicas gravimétricas e eletroquímicas**. 247 f. Tese (Doutorado em Engenharia)- Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

ARACIL, J.; BOUAID, A.; MARTINEZ, M. Long storage stability of biodiesel from vegetable and used frying oils. **Fuel**, v. 86, p. 2596-2602, 2007.

ARAÚJO, S. V.; LUNA, M. T.; ROLA JR, E. M.; AZEVEDO, D. C. S.; CAVALCANTE JR, C. L. A rapid method for evaluation of the stability of castor oil FAME: influence of antioxidant type and concentration. **Fuel Processing Technology**, v. 90, p. 1272-1277, 2009.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 15512**: Armazenamento, transporte, abastecimento e controle de qualidade de biodiesel e/ou mistura óleo diesel/biodiesel. Rio de Janeiro, 2008.

BENTO, F. M.; BEECH, I. B.; GAYLARD, C. C.; ENGLERT, G. E.; MULLER, I. L. Degradation and corrosive activities of fungi in a diesel-mild steel-aqueous system. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 21, p. 135-142, 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP). **Cartilha do Posto Revendedor de Combustíveis**. 3a ed. Rio de Janeiro: ANP, 2008. p. 28. ISBN 978-85-88286-09-2.

BRASIL. Agência Nacional De Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP). Resolução nº. 65, de 9 de dezembro de 2011. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 12 dez. 2011.

BRASIL. Agência Nacional De Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP). Resolução nº. 14, de 11 de maio de 2012. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 maio 2012.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº. 415, de 24 de setembro de 2009. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 25 set 2009.

BÜCKER, F.; SANTESTEVAN, N. A.; ROESCH, L. F.; JACQUES, R. J. S.; PERALBA, M. C. R.; CAMARGO, F. A. O. C.; BENTO, F. M. Impact of biodiesel on

biodeterioration of stored Brazilian diesel oil. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 65, n. 01, p. 172-178, jan. 2011.

CHAO, Y.; LIU, N.; ZHANG, T.; CHEN, S. Isolation and characterization of bacteria from engine sludge generated from biodiesel-diesel blends. **Fuel**, v. 89, p. 3358-3364, 2010.

CUNHA, M. E.; KRAUSE, L. C.; MORAES, M. S. A.; FACCINI, C. S.; JACQUES, R. A.; ALMEIDA, S. R.; RODRIGUES, M. R.; CARAMÃO, E. B. Beef tallow biodiesel produced in a pilot scale. **Fuel Processing Technology**, v. 90, p. 570-575, 2009.

DAS, N.; CHANDRAN, P. Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview. **Biotechnology Research International**, DOI 10.4061/2011/941810.

FRANCO, L. Mistura de biodiesel deve chegar a 7% em 2013. **Revista Globo Rural**, ago. 2012. Disponível em: <<http://revistagloborural.globo.com/Revista/Common/0,EMI315037-18531,00-MISTURA+DE+BIODIESEL+DEVE+CHEGAR+A+EM.html>>. Acesso em: 04 set 2012.

FUKUDA, H.; KONDO, A.; NODA, H. Biodiesel Fuel Production by Transesterification of Oils. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 92, p. 405-416, 2001.

GAYLARD, C. C.; BENTO, F. M.; KELLEY, J. Microbial contamination of stored hydrocarbon fuels and its control. **Revista de Microbiologia**, v. 30, p. 01-10, 1999.

GENTIL, V. **Corrosão**. 5. ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora S/A, 2007.

GUARRO, J. S.; HOOG, G. **Atlas of clinical mycology**. New York: Academic Press, 1980.

HU, J.; DU, Z.; LI, C.; MIN, E. Study on the lubrication properties of biodiesel as fuel lubricity enhancers. **Fuel**, v. 84, p. 1601-1606, 2005.

JAIN, S.; SHARMA, M. P. Review of different test methods for the evaluation of stability of biodiesel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 2, p.1937-1947, fev. 2010b.

JAIN, S.; SHARMA, M. P. Stability of biodiesel and its blends: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 2, p. 667-678, fev. 2010a.

JUNIOR, E. G.; GAETTI-JARDIM, E. C.; SCHWEITZER, C. M.; GOMES, A. H.; OLIVEIRA, K. L.; SANGALLI, J.; SOUSA, F. R. N. Nebulizadores e a Possibilidade de Transmissão de Microrganismos Superinfectantes e Oportunistas. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 13, n. 2, p. 35-42, 2009.

KARAVALAKIS, G.; STOURNAS, S.; KARONIS, D. Evaluation of the oxidation stability of diesel/biodiesel blends. **Fuel**, v. 89, p. 2483-2489, 2010.

KNOTHE, G. Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. **Fuel Processing Technology**, v. 86, p. 1059-1070, 2005.

KNOTHE, G. Some aspects of biodiesel oxidative stability. **Fuel Processing Technology**, v. 88, p. 669-677, 2007.

KRYGER VAN REY, H. J. W. **The Yeasts: a taxonomic study**. 3. ed. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1984.

KURTZMAN, C. P.; FEEL, J. W. **The Yeasts Taxonomic Study**. 4. ed. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1998.

LACAZ, C. S.; PORTO, E.; HEINS-VACCARI, E. M.; MELO, N. T. **Guia para identificação: fungos, actinomicetos, algas de interesse médico**. São Paulo: Sarvier, 1998. 445 p. ISBN 85-7378-088-6.

LACAZ, C. S.; PORTO, M. J. E. **Micologia médica**. 8. ed. São Paulo: Sarvier, 1991. 695 p.

LANG, X.; DALAI, A. K.; BAKHSHI, N. N.; REANEY, M. J.; HERTZ, P. B. Preparation and characterization of bio-diesels from various bio-oils. **Bioresource Technology**, v. 80, p. 52-62, 2001.

LAURO, M. J. **Desenvolvimento de métodos para determinação de número de cetano e aditivo para número de cetano por espectroscopia no infravermelho próximo e infravermelho médio**. 2006. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química. Campinas, SP, 2006; 57 f.

LEUNG, D. Y. C.; KOO, B. C. P.; GUO. Degradation of biodiesel under different storage conditions. **Bioresource Technology**, v. 97, p. 250-256, 2006.

LOURENÇO, C. Borra do biodiesel é alvo de discussão entre vários agentes do mercado. **Postos & Serviços**, v. 175, p. 10-13, jun. 2010. Disponível em: <http://www.resan.com.br/postos_servicos.asp>. Acesso em: 21 abr. 2012.

LUJAJI, F.; BERECZKY, A.; JANOSI, L.; NOVAK, C.; MBARAWA, M. Cetane number and thermal properties of vegetable oil, biodiesel, 1-butanol and diesel blends. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 102, p. 1175-1181, 2010.

MAC FADDIN, J. F. **Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica**. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1980.

MITTELBACH, M.; SCHOBAR, S. The Influence of Antioxidants on the Oxidation Stability of Biodiesel. **JAOCs**, v. 80, n. 8, p. 817-823, 2003.

MUÑOZ, M.; MORENO, F.; MONNÉ, C.; MOREA, J.; TERRADILLOS, J. Biodiesel improves lubricity of new low sulfur diesel fuels. **Renewable Energy**, v. 36, p. 2918-2924, 2011.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; KOBAYASHI, G. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia Médica**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. cap. 9, p. 56.

OWSIANIAK, M.; SZULC, A.; CHRZANOWSKI, L.; CYPLIK, P.; BOGACKI, M.; OLEJNIK-SCHMIDT, A. K.; HEIPIEPER, H. J. Biodegradation and surfactant-mediated biodegradation of diesel fuel by 218 microbial consortia are not correlated to cell surface hydrophobicity. **Appl. Microbiol. Biotechnol**, v. 84, p. 545-553, 2009.

PEDLEY, J. F.; HILEY, R. W.; HANCOCK, R. A. Storage stability of petroleum-derived diesel fuel – 1. Analysis of sediment produced during the ambient storage of diesel fuel. **Fuel**, v. 66, p. 1646-1651, 1987.

PEDLEY, J. F.; HILEY, R. W.; HANCOCK, R. A. Storage stability of petroleum-derived diesel fuel – 4. Synthesis of sediment precursor compounds and simulation of sediment formation using model systems. **Fuel**, v. 68, p. 27-31, 1989.

RAMALHO, E. F. S. M.; ALBUQUERQUE, A. R.; SOUZA, A. L.; BARRO, A. K.; MAIA, A. S.; SANTOS, I. M. G.; SOUZA, A. G. Use of different techniques in the evaluation of the oxidative stability of poultry fat biodiesel. **Journal of Thermal Analysis Calorimetry**, v. 106, n. 3, p. 787-791, 2011.

RAMOS, M. J.; FERNÁNDEZ, C. M.; CASAS, A.; RODRÍGUEZ, L.; PÉREZ, A. Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 261-268, January 2009.

RODRÍGUEZ, R. P.; SIERENS, R.; VERHELST, S. Thermal and kinetic evaluation of biodiesel derived from soybean oil and higereta oil. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 96, p. 897-901, 2009.

RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, C. E.; RODRÍGUEZ, E.; BLANCO, R.; CORDERO, I.; SEGURA, D. Fungal contamination of stored automobile-fuels in a tropical environment. **Journal of Environmental Sciences**, v. 22, p. 1595-1601, 2010.

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

SANTOS FILHO, L. **Manual de Microbiologia Clínica**. 3. ed. João Pessoa: Editora Universitária / UFPB, 2003.

SCHLEICHER, T.; WERKMEISTER, R.; RUSS, W.; MEYER-PITTRUFF, R. Microbiological stability of biodiesel-diesel-mixtures. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 2, p. 724-730, jan. 2009.

SCRIMGEOUR, C. Chemistry of fatty acids. In: SHAHIDI, F. (Ed.). **Bailey's industrial oil & fats products**. 6th ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2005. ISBN 0-471-38552-2.

SHARAFUTDINOV, I.; STRATIEV, D.; SHISHKOVA, I.; DINKOV, R.; BATCHVAROV, A.; PETKOV, P.; RUDNEV, N. Cold flow properties and oxidation stability of blends of near zero sulfur diesel from Ural crude oil and FAME from different origin. **Fuel**, v. 96, p. 556-567, 2012.

SILVA, R. V.; SILVEIRA, R. B.; BARBARA, M. M.; PEREIRA, D. V.; SOUZA, C. D.; PAES FILHO, A. C. M. A Inserção do biodiesel na matriz energética brasileira e seus reflexos socioeconômicos. **Revista de Logística da FATEC-CARAPICUÍBA**, n. 3, p. 7-25, 2012. ISSN 2178-0382

SINGH, S. P.; SINGH, D. Biodiesel production through the use of different sources and characterization of oils and their esters as the substitute of diesel: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 200-216, 2010.

SKROBOT, V. L. **Regulação de biocombustíveis pela Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis e cenário e caracterização da demanda de ensaios na cadeia do biodiesel**. Disponível em: <http://www.celab.org.br/wp-content/uploads/2009/08/cenario_caracterizacao_demanda_biodiesel_e_regulacao_biocombustivel_anp_vinicius_skrobot.pdf>. Acesso em: 21 abr. 2012.

SOARES, K. O. **Estudo das especificações dos derivados do petróleo – gasolina e diesel – histórico e perspectivas**. 2002. Dissertação de Mestrado, Universidade Salvador. Salvador, BA, 2002, 100 f.

SOUZA, T. B. **Revisão da equação de cálculo de índice de cetano para as características do diesel comercializado no Paraná**. 2008. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia – PIPE, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2008; 142 f.

STANISLAUS, A.; MARAFI, A.; RANA, M. S. Recent advances in the science and technology of ultra low sulfur diesel (ULSD) production. **Catalysis Today**, v.153, p. 1-68, 2010.

SU, W.; WU, B.; CHEN, W. Characterization and biodegradation of motor oil by indigenous *Pseudomonas aeruginosa* and optimizing medium constituents. **Journal of Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 42, p. 689-695, 2011.

TAN, P.; HU, Z.; LOU, D. Regulated and unregulated emissions from a light-duty diesel engine with different sulfur content fuels. **Fuel**, v. 88, p. 1086-1091, 2009.

VIDELA, H. A. **Biotecnologia: Corrosão Microbiológica**. Tradução: Tibor Rabockai. 4. v. São Paulo: Editora Edgard Blücher Ltda, 1986.

WESTBROOK, S. R.; LECREN, R. Automotive diesel and non-aviation gas turbine fuels. In: Totten, G. E. (Org.). **Fuels and lubricants handbook: technology, properties, performance, and testing**. **ASTM International**, 2003, cap. 5, p. 115-144. ISBN 0-8031-2096-6.

WIERZBICKI, V. Determining the oxidation stability of biodiesel and blends using a new rapid small scale oxidation test (RSSOT) – The PetroOXY. **Journal of ASTM International**, v. 7, n. 4, 2010.

ZENEBON O, PASCUET NS, TIGLEA P. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz; 2008.