

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LUIZ FERNANDO DOMBROSKI

**FORMAÇÃO DE AGREGADOS DE ÉSTERES DE ÁCIDOS GRAXOS E
SEUS EFEITOS NA SOLUBILIDADE AQUOSA DE HPA's**

CURITIBA

2013

LUIZ FERNANDO DOMBROSKI

**FORMAÇÃO DE AGREGADOS DE ÉSTERES DE ÁCIDOS GRAXOS E
SEUS EFEITOS NA SOLUBILIDADE AQUOSA DE HPA's**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental, Área de Concentração em Engenharia Ambiental, Departamento de Hidráulica e Saneamento, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental

Orientador: Sandro J. Froehner, Dr.

CURITIBA

2013

D667f

Dombroski, Luiz Fernando

Formação de agregados de ésteres de ácidos graxos e seus efeitos na solubilidade aquosa de HPA's/ Luiz Fernando Dombroski. – Curitiba, 2013. 155 f. : il. color. ; 30 cm.

Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental, 2013.

Orientador: Sandro J. Froehner .

Bibliografia: p. 141-155.

1. Ésteres. 2. Solubilidade. 3. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. 4. Biodiesel. I. Universidade Federal do Paraná. II. Froehner, Sandro J.. III. Título.

CDD: 665.37

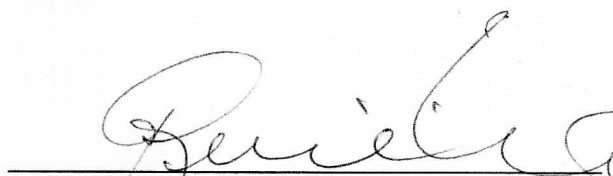
TERMO DE APROVAÇÃO

Luiz Fernando Dombroski

“Formação de Agregados de Ésteres de Ácidos Graxos e seus Efeitos na Solubilidade Aquosa de HPAs”


Dissertação aprovada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre, pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental do Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná, pela comissão formada pelos professores:

PRESIDENTE:

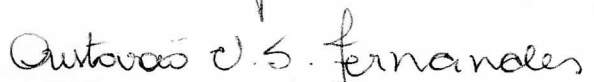


Sandro Froehner
Universidade Federal do Paraná
Orientador

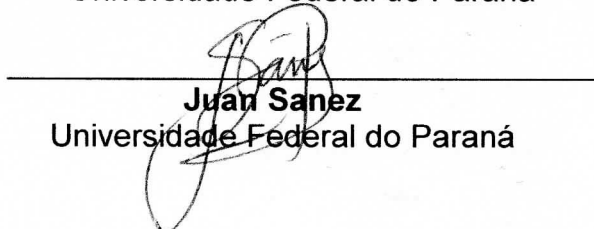
MEMBROS:



Carlos Itsumi Yamamoto
Universidade Federal do Paraná



Cristovão Vicente S. Fernandes
Universidade Federal do Paraná



Juan Sanez
Universidade Federal do Paraná

Curitiba, 07 de março de 2013

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela minha vida abençoada e por permitir que novas etapas em minha trajetória sejam conquistadas, tornando-me a cada dia uma pessoa melhor.

À Marcela, minha esposa de personalidade única, o que a torna a mulher mais fascinante e surpreendente desse mundo. Minha linda, meu respeito por você acima de tudo. Felizmente, estamos nessa caminhada juntos e temos um planejamento extenso pela frente. *“Notre amour est par toujours ma belle”*.

Aos meus pais, Luiz Carlos e Palmira, pelos valores e educação fielmente respeitados por vosso filho. Sempre serão meu pilar na construção da minha família.

Ao meu irmão Luiz Felipe. Muitas conquistas estão por vir. A primeira foi você ter vencido a corrida pela vida nos acréscimos do segundo tempo da prorrogação.

À Solange e Rogério, pais de minha esposa, por quem tenho grande respeito.

Ao Flick, Estopinha, Tuti e Billy. O que será que passa na cabeça de vocês?

À Universidade Federal do Paraná, por tornar possível a realização e desenvolvimento de minha dissertação de mestrado no PPGERHA.

Ao professor Sandro, pela oportunidade e ideia potencial de projeto de mestrado a ser desenvolvido durante o cronograma de estudos. Obrigado pela sua orientação e contribuições para meu crescimento profissional.

Ao Cristóvão, antes de professor, um ser humano de personalidade marcante e caráter apaixonante. A minha gratidão pela oportunidade em ingressar no Projeto Integra é ∞. Os seus ensinamentos são uma recompensa a cada dia que convivemos juntos, tentando entender como devemos nos comportar na sociedade. “Não é fácil, acho que estou ficando velho para isso”. Tenho muito respeito e admiração por você Cris. Obrigado por tudo até o momento! Ao futuro...

Aos professores do PPGERHA, em especial aqueles que proporcionaram a difícil tarefa de conquistar os meus créditos, mas não impossível para um Tecnólogo em Química Ambiental: Mirian Mine, Eloy Kaviski, Júlio Azevedo, Maria Cristina, Tobias Bleninger, Alexandre Guetter e Cristóvão. Obrigado pelos ensinamentos que permitiram ampliar o meu conhecimento!

Aos membros dessa banca de defesa de dissertação, professores Carlos I. Yamamoto e Cristóvão V. S. Fernandes, e pós doutorando Juan Sanéz. Sou muito

grato pela disponibilidade em compartilhar os resultados desse projeto de pesquisa, assim como das contribuições advindas da crítica leitura e revisão do manuscrito.

Ao professor Miguel M. Aisse pela revisão e considerações apontadas no manuscrito apresentado na banca de qualificação.

Ao Rafael E. Farah, amigo eterno que permite compartilhar tudo que é possível conversarmos em uma amizade fiel e verdadeira.

Ao Luís M. S. T. Buchir, moçambiquano de pensamentos e sentimentos intensos e verdadeiros, que tornou possível, desde sua chegada ao Brasil, uma amizade que vai além do Oceano Atlântico, que merece com absoluta certeza ser respeitada e valorizada para a vida toda. Gostaria de tornar você um “brasileiro” para permanecer aqui conosco, pelo menos mais um bocadinho!

Ao Luiz Vasconcelos, amigo insubstituível. Continue assim, lutando pelos seus sonhos e pelas oportunidades que aparecem em sua vida.

À Ana Paula (*Aninha*). Muito obrigado por permitir que nossa amizade exista.

À Josi Ane e Joelma. Amigas e parceiras!

À Tamiris. Achei que você iria somente realizar uma análise de COT no LABEAM, mas estava errado, descobri foi uma nova amizade. Muito obrigado por todo o apoio e pelas boas risadas no laboratório. Abafa!

Aos colegas do PPGERHA, em especial ao Emerson, Suki, Gui Samways e Gustavo Taka.

Ao LACAUTets, pela disponibilidade em realizar as análises de caracterização das amostras de diesel e biodiesel.

Ao Departamento de Química da UFPR, pelas análises realizadas nos laboratórios de Biocatálise e Química de Fitomassa (caracterização do biodiesel) e Química Ambiental (análises de fluorescência). Em especial, ao professor Arion.

Ao Departamento de Química e Biologia da UTFPR, pela realização das análises de HPAs, em nome do professor Júlio C. R. de Azevedo.

À vocês, pessoas que compartilharam direta ou indiretamente na realização de uma nova etapa de minha vida. Obrigado!

À CAPEs pela concessão da bolsa de estudos no período de desenvolvimento dessa pesquisa.

RESUMO

DOMBROSKI, L. F. **Formação de agregados de ésteres de ácidos graxos e seus efeitos na solubilidade aquosa de HPA's**. 2013. Dissertação de Mestrado – Departamento de Hidráulica e Saneamento, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

O diesel apresenta-se como um combustível fóssil amplamente empregado no mundo. Por outro lado, o seu papel como um contaminante potencial o torna uma questão de preocupação ambiental, bem como de saúde pública. A partir da sua complexa composição química, principalmente associada com hidrocarbonetos derivados do petróleo, está estritamente relacionado com a contaminação de águas subterrâneas. Além disso, destacam-se as fontes alternativas de energia como importantes medidas de mitigação contra os impactos globais de energia. O biodiesel é um dos biocombustíveis com maior produção atualmente a partir de biomassa renovável. Sabendo que o biodiesel pode ser aplicado como um substituto integral ou parcial (misturas) do diesel, devido às suas semelhanças físico-químicas, o seu destino e comportamento na subsuperfície são pouco explorados, ao passo que estudos ecotoxicológicos e de biodegradação apresentam um conjunto de dados mais consolidado na literatura. A hipótese principal deste trabalho está relacionada com o comportamento do biodiesel a partir da sua composição química em apresentar algum tipo de atividade tensoativa, que permita alterar os fenômenos de transporte e transferência de massa de contaminantes orgânicos, com foco nos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA's). O objetivo principal foi investigar a formação de agregados de ésteres de ácidos graxos (EAG's) em meio aquoso relacionados com a composição química do biodiesel, sendo avaliados: palmitato de etila, estearato de etila, oleato de etila e linoleato de etila, no seu estado puro, bem como amostras de biodiesel preparadas em laboratório a partir da reação de transesterificação catalisada em meio alcalino a partir do óleo de soja refinado, capaz de proporcionar ésteres metílicos de ácidos graxos (EMAG's) ou ésteres etílicos de ácidos graxos (EEAG's). A partir dessa abordagem, experimentou-se sistemas de equilíbrio de fases adotando o método de agitação lenta, para avaliar os efeitos potenciais entre fases aquosa e orgânica, a segunda associada com a presença ou de um éster etílico específico, biodiesel, diesel, ou misturas diesel/biodiesel, relacionados com a troca dinâmica e a concentração de equilíbrio de alguns HPAs selecionados como modelo de contaminantes. A parte experimental foi realizada em escala de bancada. Primeiramente, medições da dispersão de luz (ensaios de turbidez) desenvolvida neste trabalho, bem como o emprego do pireno como sensor químico fluorescente foram selecionados como técnicas para avaliar a ocorrência de agregados de EAG's. Toda a preparação das amostras e etapas experimentais foram consolidadas durante este projeto de pesquisa. A partir de extensa revisão de literatura, verificou-se que este é o primeiro projeto de pesquisa acadêmica concluído que demonstrou a partir de dois métodos analíticos específicos a ocorrência de agregados de EAG's em meio aquoso e seus efeitos potenciais na solubilização de HPA's explicado a partir deste conceito. Além disso apresenta novas provas científicas que podem relacionar o destino e comportamento do biodiesel na subsuperfície devido à extensa utilização de misturas diesel/biodiesel.

Palavras chave: ésteres de ácidos graxos, solubilidade aquosa, HPA's, equilíbrio de partição, misturas diesel/biodiesel, agregados, CAC.

ABSTRACT

DOMBROSKI, L. F. **Formation of aggregates from fatty acid esters and their effects on PAH's aqueous solubility.** 2013. Dissertação de Mestrado – Departamento de Hidráulica e Saneamento, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

Diesel fuel presents itself as a highly efficient fossil fuel applied worldwide. On the other hand, its role as a potential pollutant, makes it is an environmental concern issue, as well as public health. Their complex chemical composition mainly associated with petroleum derived hydrocarbons is also strictly related with groundwater contamination. Furthermore, renewable energy sources coming to be an important mitigation measure against the global energy balance impacts. Biodiesel is one of the most biofuels actually produced from renewable biomass. Knowing that biodiesel fuels can be applied as an integral or partial (blends) fuel replacement for fossil diesel due their similarities as a solvent, this fate and behavior in the subsurface are still unclear, once that ecotoxicological and biodegradation studies presents more consolidated dataset in the literature. The main hypothesis of this work is related with chemical behavior of the biodiesel specifically components to presented some surfactant activity that can changing transport phenomena and contaminant mass transfer, focused on polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH's). The main purpose of this work was to investigate the formation of aggregates from fatty acid alkyl esters (FAE) in aqueous medium related with biodiesel chemical composition, they are: ethyl palmitate, ethyl stearate, ethyl oleate and ethyl linoleate in their pure state, as well as biodiesel samples prepared in lab from soybean oil based-catalysed transesterification reaction to provide fatty acid methyl esters (FAME) or fatty acid ethyl esters (FAEE). From this approach, batch experiments in systems of phase equilibria and the slow-stirring method were done to evaluate the potentials effects between aqueous and organics phase, the latter associated with a specifically FAE, biodiesel, diesel or diesel/biodiesel blends, on exchanges dynamics and the aqueous equilibrium concentration of some selected PAHs adopted as model contaminants. All experimental methodology was running in a bench scale. Firstly, measurements of light scattering (turbidity assays) developed in this work, as well as molecular fluorescence employed pyrene as fluorescent probe from literature database, were taken in order to assess the occurrence of FAE aggregates. All sample preparation and procedure steps were firstly evaluated during this research project. From the extensive literature review, this is the first academic research project concluded that demonstrated from specific analytical methods, the occurrence of FAE aggregates in aqueous medium and that potential effects on PAH's aqueous solubilization can be explained by this concept. Also, presents new scientific evidence that can be related with biodiesel behavior and fate in subsurface, due their extensive use in diesel/biodiesel blends.

Keywords: fatty acid esters, aqueous solubility, PAH's, equilibrium partitioning, diesel/biodiesel blends, aggregates, CAC.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Reação global e reações intermediárias para a transesterificação de TAGs via rota alcoólica para produção de EAG's (biodiesel) e glicerol. Traduzido e adaptado de Huber, Iborra e Corma (2006).	8
FIGURA 2 – Cenário hipotético dos impactos associados a pluma de contaminação de fases líquidas orgânicas não aquosas (NAPL), em presença de etanol (a) e biodiesel (b). Traduzido de Corseuil <i>et al.</i> (2011).	14
FIGURA 3 – Estrutura generalizada de um éster de ácido graxo.	16
FIGURA 4 – Ilustração das principais características dos diferentes tipos de agregados formados a partir do agente tensoativo. Extraído de Maniasso (2001).	17
FIGURA 5 – Esquema generalizado da co-existência de ambientes micelares e monômeros em meio aquoso, fundamentado pelo fenômeno de auto-agregação. <i>Fonte:</i> o autor (2012).	19
FIGURA 6 – Esquema de ambientes micelares e os equilíbrios existentes (k_d^1 e k_d^2). Adaptado de Chakraborty; Chakraborty; Ghosh, 2011.	20
FIGURA 7 – Determinação da CMC. As diferentes curvas representam exemplos hipotéticos do comportamento de diferentes propriedades físicas avaliadas (Adaptado de Chakraborty; Chakraborty; Ghosh, 2011).	20
FIGURA 8 – Determinação da CMC a partir de medições de tensão superficial (γ) exemplificado para EAGs de açúcares: mono-ésteres de maltose dos ácidos láurico (C12), mirístico (C14), palmítico (C16) e esteárico (C18). Traduzido e adaptado de Ferrer <i>et al.</i> , (2002).	22
FIGURA 9 – Sistema óptico para um turbidímetro modelo HACH® 2100P.	24
FIGURA 10 – Modelo de regressão linear demonstrando o fenômeno de auto-agregação em soluções monoméricas a partir do ponto de descontinuidade (δ) fornecido pela intersecção entre as retas A e B. <i>Fonte:</i> o autor (2012).	25
FIGURA 11 – Modelo generalizado do ajuste sigmoidal decrescente a partir da função tipo Boltzmann e os parâmetros característicos da regressão, além dos pontos $(X_{CMC})_1$ e $(X_{CMC})_2$, respectivamente, a posição central do sigmóide e a intersecção das linhas $y_2=A_2$ e $y_3 = f(x)$. Adaptado de Aguiar <i>et al.</i> (2003).	28
FIGURA 12 – Incorporação de HPA's em ambientes micelares e os possíveis caminhos de biodisponibilidade dos contaminantes para a comunidade microbiana/biodegradação (A, B, C). Adaptado de Schippers <i>et al.</i> (2000).	30
FIGURA 13 – Distribuição (%) dos tipos de hidrocarbonetos nos principais derivados do petróleo. Traduzido e adaptado de Selley (1998). As estruturas ao lado direito representam constituintes do óleo diesel: (a) parafínicos (<i>cetano</i>); (b) olefinas (<i>1-deceno</i>); (c) naftênicos (<i>derivados do ciclohexano</i>); (d) alquilbenzenos; (e) alquilnaftalenos; (f) derivados da decalina (<i>naftênicos</i>); (g) aromáticos cíclicos (<i>derivados do HPA antraceno</i>); (h) HPA's (<i>BaP</i>).	34
FIGURA 14 – Estrutura molecular dos 16 HPA's prioritários listados pela agência ambiental norte-americana (US EPA), sub-classificados em HPA's de baixo peso molecular (2-3 anéis aromáticos) e HPA's de alto peso molecular (4-6 anéis aromáticos).	36
FIGURA 15 – Representação das zonas existentes na subsuperfície associadas à distribuição de água. <i>Fonte:</i> o autor, com adaptação a partir de Fill e Mine (1989).	39
FIGURA 16 – Modelo de um vazamento de LNAPL na subsuperfície. Traduzido e modificado de Bear e Cheng (2010).	40

- FIGURA 17 – Representação dos quatro estados físicos (lado esquerdo) presentes para um caso de contaminação por (L)NAPL na zona não saturada (zona vadosa) e possíveis mecanismos de partição na subsuperfície (lado direito). Adaptado de Newell *et al.* (1995). 42
- FIGURA 18 – Esquema representativo das etapas envolvidas no preparo do biodiesel. 51
- FIGURA 19 – Aspecto visual das amostras de diesel D1 (esquerda) e D2 (direita). 53
- FIGURA 20 – Exemplo dos experimentos realizados em sistemas de equilíbrio de fases, nesse caso HPA:biodiesel:água. 58
- FIGURA 21 – Sistema empregado para os experimentos envolvendo sistemas de equilíbrio de fases (método de agitação lenta). 60
- FIGURA 22 – Medições de turbidez (τ) para amostras controle contendo somente água destilada e deionizada. 70
- FIGURA 23 – Plot log-log da variação nas medições de turbidez (τ) em função da concentração molar dos EEAG's PE (a), EE (b), OE (c) e LE (d), avaliados na sua forma pura em meio aquoso. Nos gráficos são mostrados os dados experimentais (\bullet), o modelo de ajuste a partir de regressão linear simples (—) e o intervalo de confiança ($\rho < 0,05$), (----), discriminado para os dois grupos de dados (A e B), sendo reportadas as respectivas equações da reta, R^2 , N , SQR e o ponto de descontinuidade δ . As barras verticais representam o erro (σ) a partir das duplicatas analisadas. 71
- FIGURA 24 – Plot log-log para a variação nas medições de turbidez (τ) em função da concentração (% v v⁻¹) das amostras de biodiesel BM1 (a) e BE2 (b), avaliados a partir da composição percentual dos respectivos EMAG's e EEAG's em meio aquoso. Nos gráficos são mostrados os dados experimentais (\bullet), o modelo de ajuste a partir de regressão linear simples (—) e o intervalo de confiança ($\rho < 0,05$), (----), discriminado para os dois grupos de dados (A e B), sendo reportadas as respectivas equações da reta, R^2 , N , SQR e o ponto de descontinuidade δ . As barras verticais representam o erro (σ) a partir das duplicatas analisadas. 74
- FIGURA 25 – Espectro para a $SSat_{Pry}$, e os cinco picos principais de emissão de fluorescência do pireno (I-V), com excitação em 343 nm. 77
- FIGURA 26 – Comportamento do índice de polaridade do pireno, razão I_1/I_3 (1:3), em função da concentração molar (base log) do surfactante não iônico Tween 80 em meio aquoso. Nos gráficos são mostrados os dados experimentais (\bullet), o ajuste sigmoidal modelado segundo a função tipo Botzmann (—) e o intervalo de confiança ($\rho < 0,05$) para os dados amostrais (----). As barras verticais representam o erro (σ) a partir das duplicatas analisadas, e o gráfico interno reproduz os dados plotados sem ajuste do eixo-x para base log. 77
- FIGURA 27 - Comportamento do índice de polaridade do pireno, razão I_1/I_3 (1:3), em função da concentração molar (base log) dos EEAG's PE (a), EE (b), OE (c) e LE (d), avaliados individualmente na sua forma pura em fase aquosa. Nos gráficos são mostrados os dados experimentais (\bullet), o ajuste sigmoidal modelado segundo a função tipo Botzmann (—) e o intervalo de confiança ($\rho < 0,05$) para os dados amostrais (----). As barras verticais representam o erro (σ) a partir das duplicatas analisadas. 80
- FIGURA 28 – Valores de $\Delta_{CAC}(I_1/I_3-\delta)$ determinados a partir dos resultados de CAC para os EEAG's PE, EE, OE e LE, representados no gráfico, nessa ordem, pelos números entre 1-4. 82
- FIGURA 29 – Comportamento da constante dielétrica do meio (ϵ) na presença dos EEAG's palmitato de etila (\blacksquare), estearato de etila (\circ), oleato de etila (\blacktriangle) e linoleato de etila (\square), em função da faixa de concentração molar estudada (10^{-8} - 10^{-5} M). 83
- FIGURA 30 – Correlação linear ($\rho < 0,05$) entre os valores de I_1/I_3 avaliados no ponto A_2 da curva sigmóide vs. $\Delta A (A_2-A_1)$ do modelo de ajuste sigmoidal (Eq. 1), considerando os dados

- obtidos para PE, EE, OE e LE, representados no gráfico, nessa ordem, pelos números entre 1-4. No gráfico é mostrado o ajuste linear (—) relacionando PE, EE e OE no intervalo de confiança ($\rho < 0,05$), (----). 85
- FIGURA 31 – Comportamento do índice de polaridade do pireno, razão I_1/I_3 (1:3), em função da concentração molar (base log) e volumétrica (% v v⁻¹) das amostras de biodiesel BM1 (a) e BE2 (b), avaliados em fase aquosa. Nos gráficos são mostrados os dados experimentais (●), o ajuste sigmoidal modelado segundo a função tipo Botzmann (—) e o intervalo de confiança a 95% ($\rho < 0,05$) para os dados amostrais (----). O gráfico interno reproduz os dados plotados sem ajuste do eixo-x para base log. 87
- FIGURA 32 – Correlação linear ($\rho < 0,05$) da relação ΔA vs. I_1/I_3 (A_2), considerando os dados obtidos para EEAG's no estado puro e amostras de biodiesel. Os números entre 1-4 representam os EEAG's na ordem PE, EE, OE e LE sendo BM1 e BE2 os números 5 e 6, respectivamente. Note que as linhas de cor vermelha em diferentes estilos representam o ajuste linear relacionando os pontos 1, 2, 3 e 5 (sólida), 1-5 (traço-ponto), 1-6 (traço curto) e 3, 4 e 6 (traço curto-ponto). O nível de confiança ($\rho < 0,05$) para a linha sólida também é apresentado (---). 91
- FIGURA 33 – Intensidade da emissão de fluorescência em I_1 (372 nm) e I_3 (383 nm) em função da concentração molar das amostras de biodiesel BM1 e BE2 em meio aquoso na ausência de pireno ($SSat_{Pry}$). 92
- FIGURA 34 – Espectros de emissão de fluorescência observados para o comportamento da sensibilidade do pireno quanto a mudança na polaridade do meio na presença dos EEAG's PE (a), EE (b), OE (c) e LE (d) e amostras de biodiesel BM1 (e) e BE2 (f). No eixo-y (lado direito) a representação do índice I_3/I_1 (Kalyanasundaram e Thomaz, 1977) é apresentado. Note que a diferenciação de cores do símbolo e/ou o estilo de cada linha referenciam os espectros apresentados. 94
- FIGURA 35 – Orientação do pireno como uma função da distância a partir do centro de massa da micela do lauril sulfato de sódio. Traduzido e adaptado de Yan *et al.* (2012). 95
- FIGURA 36 – Comportamento dos valores de CAC a partir de I_1/I_3 (---) e τ (linha traço-ponto) entre ambos (a), MM (b), ρ (c), $\log k_{ow}$ (d), S_w (e), e correlação $\log k_{ow}$ vs. S_w (f), a partir dos dados disponíveis na Tabela 3, para PE, EE, OE e LE, representados nessa ordem pelos números entre 1-4. 96
- FIGURA 37 – Representação dos métodos de diálise (a) e fluorescência (b) empregados por Mogelson, Pieper e Lange (1984) na determinação do valor de CAC em meio aquoso em função da concentração molar, $\log[OE]$. Os valores destacados (μM) correspondem a CAC. Traduzido e adaptado de Mogelson, Pieper e Lange (1984). 99
- FIGURA 38 – Representação esquemática de um agregado estrutural formado por uma vesícula esférica bi-camada (a) comparada a uma típica estrutura micelar esférica (b), para soluções aquosas diluídas (Extraído de Nagarajan, 2011). 104
- FIGURA 39 – Solubilidade aquosa aparente (S_w^*) do naftaleno (a), fenantreno (b), antraceno (c) e pireno (d) em função da concentração molar do oleato de etila, OE, (base log) em sistemas de equilíbrio de fases HPA:OE:água. No eixo-y (lado esquerdo) os valores de $\log(S_w^*)$ são correspondentes aos dados experimentais (●), o ajuste a partir de regressão linear (—) e o intervalo de confiança a 95% ($\rho < 0,05$) para os dados amostrais (----). No eixo-y (lado direito) são reportados os valores de S_w^* sincronizado para as unidades de mg L⁻¹ e mM (linha traço-ponto). 107
- FIGURA 40 – Comportamento da razão S_w/S_w^* para o naftaleno (□), fenantreno (●), antraceno (▶) e pireno (○) em função da concentração molar do oleato de etila, OE, (base log) em sistemas de equilíbrio de fases HPA:OE:água. A área delimitada no gráfico superior foi ampliada para melhor visualização. A linha tracejada no gráfico superior representa $S_w=S_w^*$ 111

- FIGURA 41 – Ajuste exponencial do fator de solubilização $S_{w,max}^*/S_w$ em função do $\log S_w$ a partir dos resultados obtidos em sistemas de equilíbrio de fases HPA:OE:água. Os números representam naftaleno (1), fenantreno (2), antraceno (3) e pireno (4)..... 113
- FIGURA 42 – Correlação entre $\log k_{ow}$ e $\log K_{ag}$ entre os HPA's naftaleno (1), fenantreno (2), antraceno (3) e pireno (4), a partir dos resultados obtidos nos sistemas de equilíbrio de fases HPA:OE:água. Note que as linhas de cor vermelha em diferentes estilos representam o ajuste linear relacionando os pontos 1, 2 e 4 (sólida) e 1-4 (traço-ponto). O nível de confiança ($\rho < 0,05$) para a linha sólida também é apresentado (---). 116
- FIGURA 43 – Solubilidade aquosa aparente (S_w^*) do naftaleno em função da fração volumétrica (f) de biodiesel metílico, BM1, (a) e etílico, BE2, (b) adicionado em sistemas de equilíbrio de fases HPA:biodiesel:água. No eixo-y (lado esquerdo) os valores de $\log(S_w^*)$ são correspondentes aos dados experimentais (●) e o ajuste a partir de regressão linear (—). No eixo-y (lado direito) são reportados os valores de S_w^* sincronizado para as unidades de mg L^{-1} e mM (---). Os ajustes lineares representam f_1 (0,05-1% $v v^{-1}$) e f_2 (1-10% $v v^{-1}$)..... 117
- FIGURA 44 – Solubilidade aquosa aparente (S_w^*) do fenantreno em função da fração volumétrica (f) de biodiesel metílico, BM1, (a) e etílico, BE2, (b) adicionado em sistemas de equilíbrio de fases HPA:biodiesel:água. No eixo-y (lado esquerdo) os valores de $\log(S_w^*)$ são correspondentes aos dados experimentais (●) e o ajuste a partir de regressão linear (—). No eixo-y (lado direito) são reportados os valores de S_w^* sincronizado para as unidades de mg L^{-1} e mM (---). Os ajustes lineares representam f_1 (0,05-1% $v v^{-1}$) e f_2 (1-10% $v v^{-1}$)..... 117
- FIGURA 45 – Solubilidade aquosa aparente (S_w^*) do antraceno em função da fração volumétrica (f) de biodiesel metílico, BM1, (a) e etílico, BE2, (b) adicionado em sistemas de equilíbrio de fases HPA:biodiesel:água. No eixo-y (lado esquerdo) os valores de $\log(S_w^*)$ são correspondentes aos dados experimentais (●) e o ajuste a partir de regressão linear (—). No eixo-y (lado direito) são reportados os valores de S_w^* sincronizado para as unidades de mg L^{-1} e mM (---). Os ajustes lineares representam f_1 (0,05-1% $v v^{-1}$) e f_2 (1-10% $v v^{-1}$)..... 118
- FIGURA 46 - Solubilidade aquosa aparente (S_w^*) do pireno em função da fração volumétrica (f) de biodiesel metílico, BM1, (a) e etílico, BE2, (b) adicionado em sistemas de equilíbrio de fases HPA:biodiesel:água. No eixo-y (lado esquerdo) os valores de $\log(S_w^*)$ são correspondentes aos dados experimentais (●) e o ajuste a partir de regressão linear (—). No eixo-y (lado direito) são reportados os valores de S_w^* sincronizado para as unidades de mg L^{-1} e mM (---). Os ajustes lineares representam f_1 (0,05-1% $v v^{-1}$) e f_2 (1-10% $v v^{-1}$)..... 118
- FIGURA 47 – Correlação linear entre os valores de S_w^* para o naftaleno (○), fenantreno (▶), antraceno (■) e pireno (□), observados nos experimentos contendo amostra de biodiesel BM1 vs. BE2..... 122
- FIGURA 48 – Aspecto visual observado para os sistemas de equilíbrio de fases diesel D2/biodiesel:água após t_{eq} 7 dias, T 20 ± 2 °C, 200 rpm, na presença de diferentes frações voluméticas em f_{org} (f 0,005-1), para uma proporção diesel:água 1:20 ($v v^{-1}$)..... 129
- FIGURA 49 – Aspecto visual observado para os sistemas de equilíbrio de fases diesel D1:água após t_{eq} 7 dias, T 20 ± 2 °C, 200 rpm, para uma proporção diesel:água 1:20 ($v v^{-1}$). 130
- FIGURA 50 – Aspecto visual observado para os sistemas de equilíbrio de fases diesel D2:água após t_{eq} 7 dias, T 20 ± 2 °C, 200 rpm, para uma proporção diesel:água 1:20 ($v v^{-1}$). 130
- FIGURA 51 – Concentração de equilíbrio em meio aquoso (C_w) para o naftaleno (●) e fenantreno (○), em função da fração volumétrica de biodiesel etílico (f) em sistemas de equilíbrio de fases diesel D2:água (t_{eq} 7 dias, $T=20 \pm 2$ °C, 200 rpm). As linhas em vermelho indicam o modelo de regressão linear simples. O nível de confiança ($\rho < 0,05$) também é apresentado (---). As barras verticais representam o erro (σ) a partir das duplicatas analisadas. 132

FIGURA 52 – Comportamento dos valores de $K_{o/w}$ para o naftaleno (---) e fenantreno (linha traço ponto) em função da fração volumétrica do biodiesel (f), obtidos a partir do sistema de equilíbrio de fases diesel D2:água, na presença de misturas diesel/biodiesel. 134

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Propriedades físico-químicas do biodiesel (EMAG's). (<i>Fonte: ITRC, 2011</i>).	9
TABELA 2 – Algumas propriedades dos principais EAG's encontrados na composição do biodiesel via rota metílica (EMAG's) ou etílica (EEAG's), e suas estruturas moleculares.....	10
TABELA 3 – Propriedades físico-químicas do óleo diesel.....	34
TABELA 4 – Propriedades físico-químicas dos HPA's. Em negrito, os HPA's avaliados como modelo de contaminante neste estudo.	37
TABELA 5 – Valores máximos permitidos (VMP) da Portaria N.º 2914/2011, nível máximo de contaminante (MCL) regulamentado pela agência ambiental norte americana (US EPA) e valores guia dispostos pela Organização Mundial da Saúde (WHO) e Austrália, para padrão de potabilidade do benzo[a]pireno.	38
TABELA 6 – Valores de investigação (VI) e valores de referência (VR) de HPA's para águas subterrâneas dispostos, respectivamente, pela Resolução CONAMA N.º. 420/2009 e pelo Decreto N.º. 1190/2004 (município de Curitiba) como valores orientadores.....	38
TABELA 7 – Faixa obtida para alguns valores estatísticos relacionados à calibração ($N=6$) das micropipetas empregadas nos experimentos laboratoriais.....	49
TABELA 8 – Parâmetros avaliados para especificação das amostras de biodiesel preparadas através de transesterificação química e catálise básica.....	52
TABELA 9 – Parâmetros avaliados para especificação das amostras de diesel D1 e D2. ...	53
TABELA 10 – Representação dos valores obtidos a partir da regressão linear da curva analítica para cada HPA avaliado, LD e LQ, empregando CG-DIC.....	63
TABELA 11 – Resultados obtidos para alguns parâmetros das amostras de diesel e biodiesel avaliadas neste estudo e especificações segundo ASTM D 975, ANP N.º. 42/2009, ASTM D 6752 e EN 14215.....	67
TABELA 12 – Composição de EMAG's obtidos para a amostra BM1, valores da massa molar média (MM_m) dos EMAG's (BM) e EEAGs (BE), e massa molar ($MM_{\text{óleo}}$) do óleo utilizado (marca Leve, IMCOPA).....	70
TABELA 13 – Valores de Δy_A e Δy_B e predição dos valores de δ em μM e mg L^{-1} a partir das medições de turbidez (τ), obtidos para os EEAG's avaliados individualmente na sua forma pura em meio aquoso. Os valores de RSD (%) representam a reprodutibilidade entre as réplicas avaliadas. Entre parênteses a amplitude observada para a variação entre as medições. Análises realizadas para $T 20 \pm 2^\circ\text{C}$	72
TABELA 14 – Valores de Δy_A e Δy_B e predição dos valores de δ em $\% v v^{-1}$, mg L^{-1} e μM , obtidos para as amostras de biodiesel BM1 e BE2, a partir das medições de turbidez (τ) avaliadas em meio aquoso. Os valores de RSD (%) representam a reprodutibilidade entre as réplicas avaliadas. Entre parênteses a amplitude observada para a variação entre as medições. Análises realizadas para $T 20 \pm 2^\circ\text{C}$	75
TABELA 15 – Parâmetros do ajuste sigmoidal pela função tipo Boltzmann (x_0 , Δx , A_1 , A_2) do índice de polaridade do pireno (I_1/I_3 ou 1:3) para soluções aquosas do surfactante não iônico Tween 80. N é o número de dados experimentais, R^2 é o coeficiente de distribuição, $x_0/\Delta x$ é um coeficiente estimador e $(x_{CMC})_1$ e $(x_{CMC})_2$ os valores obtidos para a CMC. Os valores de RSD (%) representam a reprodutibilidade entre as réplicas avaliadas.....	78
TABELA 16 – Parâmetros do ajuste sigmoidal segundo função tipo Boltzmann (x_0 , Δx , A_1 , A_2) do índice de polaridade do pireno (I_1/I_3 ou 1:3) para os EEAGs avaliados na sua forma pura em fase aquosa. N é o número de dados experimentais, R^2 é o coeficiente de distribuição, $x_0/\Delta x$ é um coeficiente estimador, $(x_{CAC})_1$ e $(x_{CAC})_2$ os valores obtidos para a CAC e ε a	

constante dielétrica do meio em no ponto inferior da sigmóide (A_2). Os valores de RSD (%) representam a reprodutibilidade entre as réplicas avaliadas.....	81
TABELA 17 – Parâmetros do ajuste sigmoidal segundo função tipo Boltzmann (x_0 , Δx , A_1 , A_2) do índice de polaridade do pireno (I_1/I_3 ou 1:3) para as amostras de biodiesel BM1 e BE2. N é o número de dados experimentais, R^2 é o coeficiente de distribuição, $x_0/\Delta x$ é um coeficiente estimador, $(X_{CAC})_1$ e $(X_{CAC})_2$ os valores obtidos para a CAC e ε a constante dielétrica do meio em no ponto inferior da sigmóide (A_2).....	88
TABELA 18 – Parâmetros do ajuste linear segundo modelo de regressão linear simples relacionando os valores de CAC (τ , I_1/I_3) com algumas propriedades físico-químicas (MM , ρ , S_w e $\log K_{ow}$) dos EEAG's EE (18:0), OE (18:1) e LE (18:2) perimentais, R^2 é o coeficiente de distribuição, $x_0/\Delta x$ é um coeficiente estimador, $(X_{CAC})_1$ e $(X_{CAC})_2$ os valores obtidos para a CAC e ε a constante dielétrica do meio em no ponto inferior da sigmóide (A_2).....	97
TABELA 19 – Faixa de valores de CAC (mM) obtidas neste estudo para EEAG's (PE, EE, OE, LE) para análise comparativa com alguns substâncias de atividade tensoativa conhecida e contendo AGs como precursores da sua estrutura molecular.....	98
TABELA 20 – Solubilidade aquosa (em mg L^{-1} e μM) em sistemas de equilíbrio HPA:água para o naftaleno, fenantreno, antraceno e pireno no seu estado puro (S_w) e valores para a solubilidade sub-resfriada (S_{w-sub}), obtidos para um t_{eq} de 7 dias e $T = 20 \pm 2$ °C. Os valores de RSD (%) representam a reprodutibilidade entre as réplicas avaliadas.....	105
TABELA 21 – Testes de recuperação para os HPA's naftaleno, fenantreno e 9,10-dihidroantraceno em meio aquoso, aplicando o método modificado de ELL.....	106
TABELA 22 – Análise comparativa dos valores de RMS e $\log K_m$ avaliados em diferentes sistemas de surfactantes com prováveis valores associados ao comportamento dos agregados de OE na solubilização aquosa dos HPA's estudados (RMS_{ag} ; $\log K_{ag}$).....	114
TABELA 23 – Valores de S_w^* para os sistemas HPA:biodiesel:água a partir da amostra BM1 para o naftaleno, fenantreno, antraceno e pireno.....	120
TABELA 24 – Valores de S_w^* para os sistemas HPA:biodiesel:água a partir da amostra BE2 para o naftaleno, fenantreno, antraceno e pireno.....	120
TABELA 25 – Valores de S_w^* função de nS_w e percentual de HPA solubilizado a partir da quantidade máxima adicionada nos sistemas ($1:400 \text{ m v}^{-1}$).....	121
TABELA 26 – Valores do intercepto convertidos a partir das equações fornecidas pelo ajuste linear de dados para as duas faixas observadas (f_1 e f_2) a partir da relação $\log S_w^*$ vs. f	124
TABELA 27 – Resultados obtidos para C_o em mg L^{-1} ($\pm\sigma$) e $\mu\text{g g}^{-1}$, fração molar (X_o) e $\log C_w$, referente aos HPA's quantificados por CG-MS na amostra de diesel D1. A linha tracejada separa os HPAs entre baixo e alto peso molecular.....	125
TABELA 28 – Resultados obtidos para C_o em mg L^{-1} ($\pm\sigma$) e $\mu\text{g g}^{-1}$, fração molar (X_o) e $\log C_w$, referente aos HPA's quantificados por CG-MS na amostra de diesel D2. A linha tracejada separa os HPAs entre baixo e alto peso molecular.....	126
TABELA 29 – Concentração de equilíbrio na fase aquosa (C_w) para sistemas de equilíbrio de fases diesel D1:água, avaliados na proporção 1:20 (v v^{-1}), (t_{eq} 7 dias, T 20 ± 2 °C, 200 rpm) e valores de K_{ow} e α	131

LISTA DE SÍMBOLOS

C_o	Concentração do componente de interesse na fase orgânica líquida (diesel)
C_w	Concentração de equilíbrio na fase aquosa
ϵ	Constante dielétrica
C_n	Número de carbonos
f_d	Fator de diluição
f_c	Fator de concentração
f_{aq}	Fase aquosa
f_{org}	Fase orgânica
f	Fração volumétrica
I_1/I_3	Índice de polaridade do pireno
k_{ow}	Coefficiente de partição octanol-água
k_{oc}	Coefficiente de partição carbono orgânico-água
k_{Henry}	Constante de Henry
$K_{o/w}$	Coefficiente de partição líquido-líquido
K_{ag}	Coefficiente de partição agregado-água
MM	Massa molar
N	Número de dados amostrais
N_{ag}	Número de agregação
P_v	Pressão de vapor
P_{v-sub}	Pressão de vapor subresfriada
P_f	Ponto de fusão
R^2	Coefficiente de determinação
r	Coefficiente de correlação linear
S_w	Solubilidade aquosa no estado puro
S_{w-sub}	Solubilidade aquosa subresfriada
S_w^*	Solubilidade aquosa aparente
T	Temperatura da parte experimental
t_{eq}	Tempo de equilíbrio
X	Fração molar
\bar{x}	Valor médio
x_o	Ponto de inflexão da sigmóide
x_{CAC}	Valor provável para CAC
σ	Desvio padrão
Δx	Intervalo de decaimento da sigmóide
ΔS_m	Entropia de fusão
ΔG_{ag}	Energia livre de formação de agregados
ρ	Massa específica
ρ	Nível de confiança
δ	Ponto de descontinuidade na intersecção entre as retas A e B para turbidez
χ^2	Valor de qui-quadrado
τ	Turbidez
ν	Viscosidade cinemática

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AG's	Ácidos graxos
ANP	Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
API	Instituto Americano do Petróleo
ASTM	Sociedade Americana de Testes e Materiais
BM	Biodiesel metílico
BE	Biodiesel etílico
Bx	Teor de biodiesel em misturas diesel/biodiesel
CAC	Concentração de agregação crítica
CMC	Concentração micelar crítica
COH's	Compostos orgânicos hidrofóbicos
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CG-MS	Cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas
CG-DIC	Cromatografia em fase gasosa com detector por ionização de chama
CAS	Chemical Abstracts Service
EN	Comitê Europeu de Normalização
ELL	Extração líquido-líquido
EAG's	Ésteres de ácidos graxos
EEAG's	Ésteres etílicos de ácidos graxos
EMAG's	Ésteres metílicos de ácidos graxos
EE	Estearato de etila
EM	Estearato de metila
HPA's	Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
LACAUT'ets	Laboratório de Análises de Combustíveis Automotivos
LNAPL(s)	Fase(s) líquida(s) leve(s) não aquosa
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
LE	Linoleato de etila
LM	Linoleato de metila
NAPL	Fase líquida não aquosa
NDC	Número de cetano derivado
NTU	Unidade Nefelométrica de Turbidez
OE	Oleato de etila
OM	Oleato de metila
PE	Palmitato de etila
PF	Ponto de fulgor
PM	Palmitato de metila
PTFE	Politetrafluoretileno (Teflon)
RSM	Relação molar de solubilização
RSD	Desvio padrão relativo
SM _i	Solubilidade micelar
SSat _{Py}	Solução aquosa saturada de pireno
SQR	Soma dos quadrados dos resíduos
TAG's	Triacilglicerídeos
UE	União Européia
US EPA	Agência Ambiental Norte Americana

SUMÁRIO

1.	EVIDÊNCIAS DE INTERESSE	1
1.1.	INTRODUÇÃO	1
1.2.	JUSTIFICATIVA	1
1.3.	HIPÓTESE	3
1.4.	OBJETIVOS	4
1.5.	ESTRUTURA DO MANUSCRITO	5
2.	REVISÃO DE LITERATURA	6
2.1.	BIODIESEL	6
2.1.1.	Efeitos e comportamento no ambiente	11
2.1.2.	Surfactantes	15
2.1.2.1.	<i>Agentes solubilizantes de interesse ambiental</i>	29
2.2.	HIDROCARBONETOS DO PETRÓLEO	33
2.3.	HPA's	34
2.3.1.	Comportamento dos hidrocarbonetos na subsuperfície	39
2.3.1.1.	<i>Solubilidade</i>	43
3.	MATERIAIS E MÉTODOS	48
3.1.	REAGENTES	48
3.2.	DESCONTAMINAÇÃO DE VIDRARIAS	48
3.3.	CALIBRAÇÃO DE MICROPIPETAS	48
3.4.	PREPARAÇÃO DO BIODIESEL	49
3.4.1.	Caracterização das amostras	51
3.5.	DIESEL	52
3.6.	FORMAÇÃO DE AGREGADOS DE ÉSTERES ETÍLICOS	54
3.6.1.	Determinação da concentração de agregação crítica (CAC)	54
3.6.1.1.	<i>Dispersão de luz (τ)</i>	54
3.6.1.2.	<i>Índice de polaridade do pireno</i>	55
3.7.	SOLUBILIDADE AQUOSA DE HPA's	56
3.7.1.	Sistema de equilíbrio HPA:água	56
3.7.2.	Sistema de equilíbrio HPA:OE:água	57
3.7.3.	Sistema de equilíbrio HPA:biodiesel:água	57
3.7.4.	Sistema de equilíbrio diesel D1:água	58
3.7.5.	Sistema de equilíbrio diesel D2:água	59
3.8.	EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO (ELL) DOS HPA's	60
3.8.1.	Controle de qualidade para ELL (testes de recuperação)	61
3.8.2.	Condições cromatográficas para análise dos HPA's.	62
3.9.	CÁLCULO DOS HPAs NA FASE AQUOSA	63
3.10.	TRATAMENTO DOS DADOS	64
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
4.1.	CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE DIESEL E BIODIESEL	65
4.2.	PROPRIEDADES SURFACTANTES PARA MOLÉCULAS DE EAG's	70
4.2.1.	Dispersão de luz para EAG's a partir da turbidez (τ)	70
4.2.2.	Índice de polaridade do pireno para EAG's	76
4.2.3.	Relação da CAC com propriedades físico-químicas de EEAG's	96
4.2.4.	Evidências da formação de agregados para EAG's (CAC)	97
4.3.	SOLUBILIDADE AQUOSA DE HPA's (S_w)	105
4.3.1.	HPA:água	105
4.3.1.1.	<i>Validação do método ELL</i>	106

4.3.2.	HPA:OE:água	107
4.3.3.	HPA:biodiesel:água	116
4.4.	HPAs EM AMOSTRAS BRASILEIRAS DE DIESEL	125
4.5.	Sistemas diesel:água e diesel/biodiesel:água.....	128
5.	CONCLUSÕES.....	136
6.	RECOMENDAÇÕES	140
7.	REFERÊNCIAS	141

1. EVIDÊNCIAS DE INTERESSE

1.1. INTRODUÇÃO

Na diversificada matriz energética o biodiesel é um dos principais biocombustíveis atualmente comercializados em ascensão e com desenvolvimento significativo na matriz de combustíveis renováveis (TASK FORCE, 2007).

A importância deste promissor substituto face aos combustíveis fósseis remete-se ao ininterrupto consumo de óleo diesel e o seu importante papel na prosperidade da economia mundial, resultado da alta e eficiente combustão, confiabilidade, adaptabilidade e custo-efetividade, porém, tem como maior desvantagem o potencial poluidor em causar impactos ambientais (RIBEIRO *et al.*, 2007). O segmento de transportes, destacadamente o modal rodoviário, é o principal consumidor final deste combustível não renovável (BRASIL, 2007; HAMELINCK *et al.*, 2007).

Ressalta-se que o petróleo bruto é um dos principais contaminantes no ambiente com efeitos à saúde e a biota nos diferentes meios (PEDROSO *et al.*, 2002), a citar os inúmeros casos envolvendo contaminações subsuperficiais por seus derivados como o diesel, exemplo dos vazamentos oriundos de tanques de armazenamento e seus impactos sobre os usos múltiplos das águas subterrâneas.

Em outra esfera, é interessante destacar que, embora existam inúmeros estudos direcionados ao potencial emprego do biodiesel como combustível alternativo em motores do ciclo diesel, a literatura é escassa na compreensão dos possíveis efeitos do biodiesel na contaminação de águas subterrâneas por hidrocarbonetos derivados do petróleo. É fato que não encontram-se estudos publicados sobre os fenômenos que associam a química do biodiesel (ésteres de ácidos graxos) com uma base de dados científicos em problemas de engenharia tal como são os passivos ambientais em áreas contaminadas por hidrocarbonetos.

1.2. JUSTIFICATIVA

As águas subterrâneas emergiram como uma questão crítica global de utilidade pública. Isto devido ao seu uso por um grande número de usuários e com uma qualidade bastante favorável (SHAH *et al.*, 2000). Na Europa (p. ex.), 70% da

demanda por água potável (em média) provém das águas subterrâneas, assim como um vasto consumo na irrigação e no setor industrial é notado mundialmente (UNESCO, 2004).

No Brasil, segundo o Plano Nacional de Saneamento Básico, a captação de águas subterrâneas para abastecimento ocorre total ou parcialmente em 64,1% (poços profundos) dos municípios do país (IBGE, 2008).

Em termos quantitativos, o esgotamento das águas subterrâneas é uma consequência inevitável e natural devido à intensa exploração dos aquíferos (KONIKOW; KENDY, 2005). Por outro lado, os aspectos qualitativos limitam os usos múltiplos ao considerar a sua vulnerabilidade frente aos eventos de contaminação.

Segundo Souza (2001), os problemas com áreas contaminadas tornaram-se realmente visíveis a partir da década de 80, portanto, uma questão de poluição dos compartimentos ambientais que ainda detém extrema relevância nos dias atuais.

Pela extensa demanda por óleo diesel, a premissa deste estudo faz crítica à eminente problemática da contaminação subsuperficial por compostos orgânicos, majoritariamente hidrocarbonetos derivados do processo de refino do petróleo, constituintes da matriz energética de combustíveis líquidos disponíveis para comercialização e largamente empregados no setor de transportes. Não obstante, destaca-se a promissora prática de consumo do biodiesel, geralmente misturado ao óleo diesel, e uma necessidade emergente por pesquisas que contemplem o papel deste combustível renovável no comportamento físico-químico dos hidrocarbonetos do petróleo (diesel) no ambiente subsuperficial.

Por meio das misturas diesel/biodiesel ou a aplicação deste combustível renovável na forma pura, é identificada uma medida de mitigação que reduz as emissões atmosféricas colaborando na melhoria da qualidade do ar.

Entretanto, o conhecimento ainda é mínimo quanto aos seus efeitos de potencializar a solubilidade aquosa de hidrocarbonetos constituintes do diesel. Este comportamento é de interesse justamente quando a presença dos hidrocarbonetos representa algum risco à contaminação de solos e águas subterrâneas.

A crescente demanda por misturas diesel/biodiesel é retratada pelo cenário brasileiro. Seguindo o histórico de regulamentações, a Lei Federal nº 11.097/2005 fixou em 5% (em volume) o percentual obrigatório de biodiesel a ser adicionado ao óleo diesel (B5) em todo o território nacional, com prazo de aplicação de 8 anos após

publicação da mesma e de 3 anos o prazo para se utilizar um percentual obrigatório de 2%.

Após 1º de janeiro de 2008, a mistura de 2% de biodiesel puro (B100) ao diesel comercial passou a ser obrigatória. Entre janeiro e junho de 2008, a mistura de biodiesel ao óleo diesel foi de 2% (B2); entre julho de 2008 e junho de 2009 foi de 3% (B3); e entre julho e dezembro de 2009 o percentual foi de 4%. A partir de 1º de janeiro de 2010, o biodiesel passou a ser adicionado ao óleo diesel comercializado na proporção de 5% em volume (Resolução CNPE N°. 6 de 16/09/2009).

Pelo histórico de produtividade nacional e as especificações da legislação, a produção de biodiesel parece atender positivamente a demanda necessária. No ano de 2011, por exemplo, o total produzido ($2,7 \times 10^6$ m³) foi satisfatório para utilização nas misturas B5, uma vez que o volume consumido de diesel foi da ordem de $52,3 \times 10^6$ m³, necessitando, portanto, de $2,6 \times 10^6$ m³ de biodiesel (ANP, 2012). Isso permite indicar sua relevância no país como combustível da atualidade, assim como em outras localidades. Na Europa, por exemplo, o atual regulamento prevê um teor máximo de 5,75% de biodiesel (DEMIRBAS, 2007).

Destaca-se também que o uso específico de diesel B6 a B20 poderá ser autorizado sem a necessidade prévia para uso experimental. Em casos de misturas >B20, o uso experimental prévio é dispensado, havendo por parte da empresa fabricante do motor a certificação de garantia de uso (Resolução ANP n° 2/2008).

Com este aumento no percentual volumétrico de biodiesel acrescido ao óleo diesel comercializado, consolidar dados experimentais sobre as propriedades físico-químicas e os efeitos e fenômenos que regem o comportamento do biodiesel, mais especificamente ésteres de ácidos graxos, em eventos de contaminação subsuperficial por óleo diesel, adotando como modelo de contaminante os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA's), torna-se um aspecto minimamente promissor de ser pesquisado e que motiva o desenvolvimento desta pesquisa.

1.3. HIPÓTESE

A proposta, portanto, é avaliar experimentalmente o potencial dos ésteres de ácidos graxos em aumentar a solubilidade aquosa de hidrocarbonetos do óleo diesel que, na presença de misturas diesel/biodiesel atualmente regulamentadas quanto à

sua obrigatoriedade, podem influenciar no particionamento de contaminantes orgânicos para a fase aquosa.

Dessa forma, pretende-se avaliar a ocorrência de atividades com efeito de co-solvência e/ou surfactante, alteração dos fenômenos de transporte e transferência de massa de uma determinada pluma de fase orgânica líquida não aquosa, aumento na taxa de migração de seus componentes na fase dissolvida (zona saturada do solo), e, conseqüentemente, sua influência no comportamento de contaminantes orgânicos em áreas contaminadas. Por fim, evidências sobre os efeitos envolvendo a presença de biodiesel em eventos de contaminação da subsuperfície por compostos orgânicos merecem atenção, uma vez que estudos nessa direção são de grande relevância no que concerne a avaliação dos potenciais riscos existentes.

1.4. OBJETIVOS

Este projeto teve por objetivo principal investigar a formação de agregados de ésteres de ácidos graxos (biodiesel) em meio aquoso e os seus efeitos potenciais nas dinâmicas de troca e na concentração de equilíbrio de HPA's entre as fases aquosa e orgânica (biodiesel, diesel e misturas diesel/biodiesel).

Foram objetivos específicos:

- ❖ Avaliar a formação de agregados de ésteres de ácidos graxos em meio aquoso para ésteres etílicos de ácidos graxos no estado puro e em amostras de biodiesel metílico e etílico, por meio de medições de dispersão de luz (turbidez) e espectrometria de fluorescência molecular como ferramentas analíticas de quantificação;
- ❖ Preparar amostras de biodiesel a partir do óleo de soja refinado segundo método implementado em laboratório, bem como sua caracterização para algumas especificações regulamentadas pela ANP e quantificação da composição de ésteres de ácidos graxos, visando obter aspectos qualitativos da eficiência de conversão;
- ❖ Estudar o comportamento da solubilidade aquosa dos HPA's na presença de diferentes concentrações de um determinado éster etílico de ácido

- graxo, empregando como modelos de contaminantes da composição do diesel o naftaleno, fenantreno, pireno e antraceno;
- ❖ Estudar o comportamento da solubilidade aquosa de um mistura dos HPA's naftaleno, fenantreno, pireno e antraceno na presença de diferentes frações volumétricas de biodiesel;
 - ❖ Caracterizar duas amostras de diesel para algumas especificações regulamentadas pela ANP, como base de dados para discussão de resultados, sendo uma comercial e a outra obtida direto da refinaria;
 - ❖ Caracterizar as amostras de diesel para sua composição de HPA's;
 - ❖ Estudar o comportamento da concentração de equilíbrio em fase aquosa dos HPA's a partir da sua composição nas amostras de diesel e na presença de diferentes frações volumétricas de biodiesel;
 - ❖ Empregar sistemas de equilíbrio de fases em condições experimentais controladas para a realização dos experimentos de solubilidade e concentração de equilíbrio em fase aquosa.

1.5. ESTRUTURA DO MANUSCRITO

Este documento foi elaborado em sete capítulos e compreende a versão final de uma pesquisa a nível de mestrado do Programa de Pós Graduação de Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental da Universidade Federal do Paraná.

O capítulo 1 congrega as evidências de interesse destacando a importância do estudo desenvolvido no cenário de contaminação subsuperficial pela presença de hidrocarbonetos e os efeitos que podem associar-se ao crescente interesse do uso de biodiesel como um combustível substituto. São apresentados também os objetivos pretendidos para o cronograma elaborado.

A revisão de literatura apresentada no capítulo 2 foi extensivamente investigada para prover uma base técnico-científica de conceitos e dados experimentais, permitindo a interpretação e discussão dos resultados. Após, segue no capítulo 3 a metodologia desenvolvida e idealizada neste estudo.

Os resultados e discussão são reportados no capítulo 4, previamente ao desfecho da pesquisa baseado nas conclusões obtidas (capítulo 5), recomendações para estudos futuros (capítulo 6) e, por fim, mas não menos importante, o acervo da literatura revisada para consolidação desta dissertação (capítulo 7).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. BIODIESEL

O biodiesel é um biocombustível derivado de biomassa renovável e vem desempenhando um papel cada vez mais importante no cenário de combustíveis, com produção e consumo crescendo exponencialmente e padrões de qualidade sendo estabelecidos em todo o mundo (HOU; SHAW, 2008; KNOTHE, 2008).

Conceitualmente, é uma solução alternativa ao óleo diesel, sendo a principal matéria-prima óleos de origem vegetal ou animal (KINNEY; CLEMENTE, 2005).

Uma descrição dos principais insumos empregados mundialmente é destacado por Lin *et al.* (2011), e uma revisão completa das propriedades de óleos comestíveis e não comestíveis para produção de biodiesel é apresentado por Karmakar, Karmakar e Mukherjee (2010). Além do emprego de fontes não convencionais como as microalgas, fontes inovadoras como o biodiesel produzido a partir da espuma de esgoto metropolitano (FONTANA, 2011) e do uso de sedimentos dragados de lagos e reservatórios eutrofizados como fonte de ácidos graxos (KUCHKINA *et al.*, 2011).

Analisando a composição química das diversas fontes de oleaginosas, seus constituintes principais são cadeias longas de ácidos graxos saturados e/ou insaturados (AG's) contendo número de átomos de carbono (C_n) entre C_{12} - C_{22} , predominando C_{16} - C_{18} (em comprimento da molécula) tal como os ácidos palmítico, esteárico, oleico, linoleico e linolênico (HOEKMAN *et al.*, 2012).

Teoricamente, estes insumos podem ter aplicação direta como combustível alternativo, porém, a degradação dos motores e a deposição de resíduos acaba ocorrendo. Isto, principalmente devido à alta viscosidade cinemática, algo entre 10-17 vezes superior àquela observada no óleo diesel (DEMIRBAS, 2007; LIN *et al.*, 2011). Assim, um refinamento precisa ser aplicado para prover qualidade de combustível comparável ao óleo diesel (LIN *et al.*, 2011), ou seja, a conversão à biodiesel permite uma significativa redução da viscosidade, parâmetro crítico para sua utilização, possibilitando sua aplicação na forma pura (B100) ou misturado em diferentes proporções volumétricas ao óleo diesel (Bx, onde x é a proporção de biodiesel). Isso, em tese, devido às suas similaridades no comportamento como solvente (HUBER; IBORRA; CORMA, 2006; HOU; SHAW, 2008), podendo ser utilizado em motores do ciclo diesel e sendo compatíveis com todos os equipamentos de armazenamento e

distribuição, havendo pouca ou nenhuma necessidade de modificação (DEMIRBAS, 2007).

Dentre os métodos existentes, a reação química de transesterificação é atualmente a mais promissora tecnologia de produção em larga escala para conversão das moléculas de triacilglicerídeos (TAG's) a partir de reações catalisadas química (meio ácido ou básico) ou biologicamente (catálise enzimática utilizando lipases) na presença de um álcool, em álcool mono ésteres de ácidos graxos ou simplesmente ésteres de ácidos graxos (EAG's). Substâncias essas, características da composição do biodiesel juntamente à co-formação de glicerina como produto secundário da reação, também dotada de importante valor comercial (GERPEN; KNOTHE, 2005; LIN *et al.*, 2011; FONTANA, 2011).

Na Figura 1 constam as etapas intermediárias e a reação global de transesterificação entre TAG's (R_1 , R_2 e R_3 representam cadeias alifáticas, em geral C_{16} - C_{18}) e álcoois primários de cadeia curta como o metanol e o etanol, na presença de catalisadores, dentre os quais a catálise básica homogênea (NaOH ou KOH) destaca-se como a escolha dominante no preparo de biodiesel (HUBER; IBORRA; CORMA, 2006; KARMAKAR; KARMAKAR; MUKHERJEE, 2010; LAM; LEE, 2010).

A reação consiste de consecutivas reações reversíveis formando diacilglicerídeos e monoacilglicerídeos nas etapas intermediárias e que atuam como substratos da reação. Na catálise básica, a reação entre base e álcool produz espécies alcóxidas (ex.: CH_3O^- e $CH_3CH_2O^-$), água e desprotonação do catalisador.

Sequencialmente, ocorre a reação entre o alcóxido com um dos fragmentos do triacilglicerídeo (E1), seguido das reações com o diacilglicerídeo (E2) e o monoacilglicerídeo (E3), produzindo duas fases distintas (reação global), ou seja, a mistura de EAGs e glicerina, sempre com a regeneração do catalisador a cada ciclo (etapas E1, E2 e E3), e permitindo uma reação contínua com uma nova molécula de álcool para formação de novos ésteres pela substituição do glicerol do triacilglicerídeo pela cadeia carbônica correspondente ao álcool (R_4).

Uma vez que a reação de transesterificação leva a produção de biodiesel correspondente ao perfil dos seus precursores na matéria-prima, tem-se nele uma mistura de EAGs cada qual contribuinte para as propriedades do novo combustível (KNOTHE, 2005). Destaca-se que as características técnicas de obtenção do biodiesel (rendimento da reação, níveis traço de glicerina, catalisador residual ou

álcool excedente) são imprescindíveis para o produto final ser um combustível de manuseio seguro e de alta qualidade (SILVA, 2005).

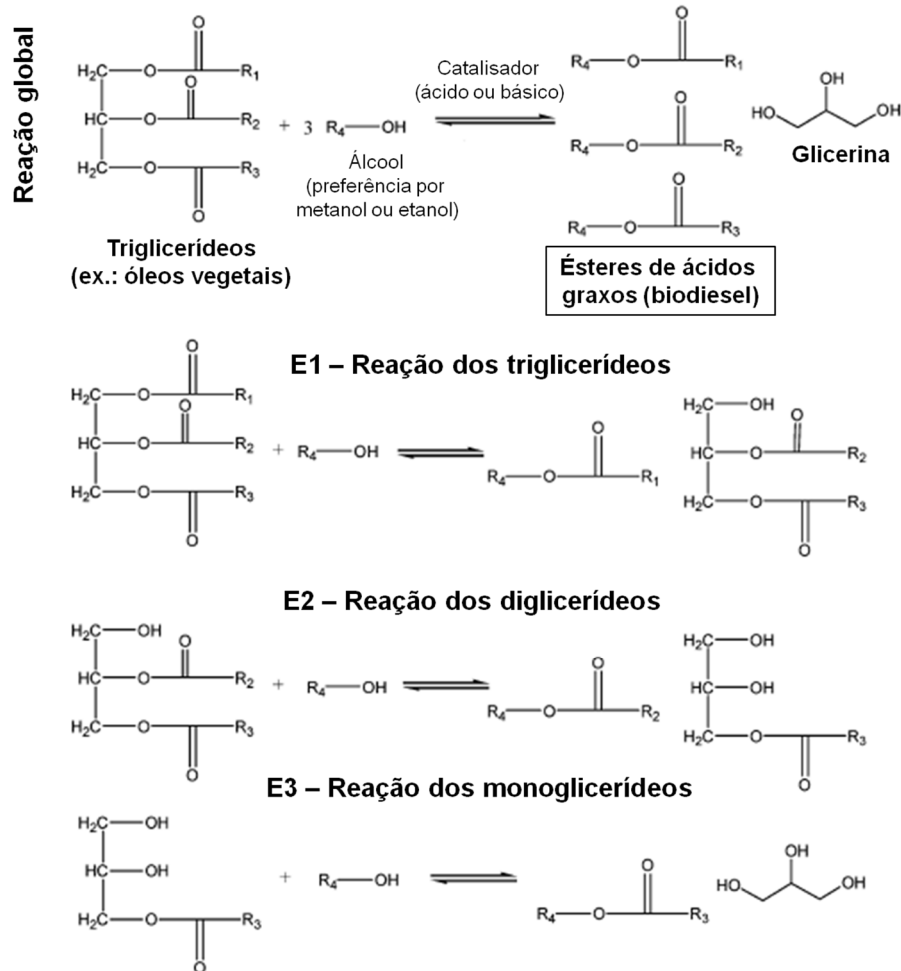


FIGURA 1 – Reação global e reações intermediárias para a transesterificação de TAGs via rota alcoólica para produção de EAG's (biodiesel) e glicerol. Traduzido e adaptado de Huber, Iborra e Corma (2006).

A estequiometria da reação de transesterificação é de 1:3 (TAG's:álcool), porém, a reversibilidade da reação sugere um excesso de álcool, tipicamente entre 50-200% (HUBER; IBORRA; CORMA, 2006). A temperatura também afeta a taxa de reação. Com seu aumento progressivo predominam taxas de reações mais rápidas em tempos de reação reduzidos (KARMAKAR; KARMAKAR; MUKHERJEE, 2010). É fundamental existir um reduzido teor de água no álcool (<0,5% m m⁻¹), evitando reações indesejáveis durante a transesterificação, exemplo da saponificação a partir de AG's livres ao empregar a catálise homogênea básica e da formação de AG's livres pela hidrólise dos EAG's empregando transesterificação ácida (GERPEN; KNOTHE, 2005; FONTANA, 2011).

O uso do biodiesel tem como principais vantagens a ausência de compostos sulfurados, reduzidos proporcionalmente à fração volumétrica de biodiesel incrementada ao diesel (Bx), maior segurança (>PF), combustível oxigenado com uma combustão mais completa (~11% O₂) e de natureza renovável, redução nas emissões veiculares do teores de particulados, hidrocarbonetos, monóxido de carbono e SO_x, e maior vida útil dos motores (uma mistura B2 aumenta a lubricidade do diesel em 100%), (DEMIRBAS, 2007; DEMIRBAS, 2009; FONTANA, 2011).

Algumas de suas limitações são o custo relativamente elevado na sua produção, (HAAS; FOGLIA, 2005), alteração da sua composição nas etapas de manuseio e armazenamento, relacionando absorção de água ou perda da sua estabilidade oxidativa pela exposição à luz, oxigênio, e não menos importante, devido ao grau de insaturações nas moléculas de EAG's (MONTEIRO *et al.*, 2008).

Além da contaminação microbiana a partir do crescimento de biomassa fúngica em misturas diesel/biodiesel tornando susceptível a biodeterioração nos tanques de estocagem e aumento da biodegradabilidade do diesel com impactos negativos na qualidade do produto final (BÜCKER *et al.*, 2011).

O metanol é o insumo predominante na indústria nacional de biodiesel, assim como nos demais países, sendo obtido principalmente pela reforma a vapor do gás natural, com custo menos expensivo que o etanol e mais facilmente obtido na forma anidra, desejável na biodieselização, apesar da sua alta toxicidade se comparado ao etanol (FONTANA, 2011), este último com a principal desvantagem de possuir maior dispersão da glicerina devido à maior solubilidade, dificultando a separação de fases (HAMELINCK *et al.*, 2007; LÔBO; FERREIRA; CRUZ, 2009). Na Tabela 1 constam algumas propriedades físico-químicas do biodiesel (EMAG's) e na Tabela 2 são sumarizadas as propriedades dos principais EAGs e suas estruturas moleculares.

TABELA 1 – Propriedades físico-químicas do biodiesel (EMAG's). (Fonte: ITRC, 2011).

Propriedade	ρ (kg m ⁻³)	S_w (mg L ⁻¹ , 25 °C)	k_{Henry}	P_v (Pa)	log k_{ow}
Biodiesel (EMAG's)	840-900	1,2x10 ⁻³ -2,1x10 ⁻²	6,4x10 ⁻³ -1,3	1,2x10 ⁻³ -5,0x10 ⁻²	6,29-8,35

TABELA 2 – Algumas propriedades dos principais EAG's encontrados na composição do biodiesel via rota metílica (EMAG's) ou etílica (EEAG's), e suas estruturas moleculares.

EAG's	Abreviação‡	CAS	Fórmula Molecular	MM^a	Pf^a	ρ^b (25 °C)	S_w (25 °C)	PF ^b	P_v^a	γ	$\log K_{ow}^b$	BHL†	Estrutura molecular
			$C_nH_kO_p$	g mol ⁻¹	°C	kg m ⁻³	$\mu\text{g L}^{-1}$	°C	Pa	mN m ⁻¹			
Palmitato de metila	16:0	112-39-0	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270,45	32-35	865	9,05	152,8	2,0x10 ⁻²	30,3	7,38	4,36	
Palmitato de etila	16:0	628-97-7	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284,48	24-26	857	3,71	149,0	9,3x10 ⁻³	30,4	7,74	5,13	
Estearato de metila	18:0	112-61-8	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	298,50	37-41	863	0,93	169,3	4,1x10 ⁻³	30,6	8,35	3,95	
Estearato de etila	18:0	111-61-5	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312,54	35-38	863	0,37	161,0	4,0x10 ⁻³	30,7	8,72	4,67	
Oleato de metila	18:1	112-62-9	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296,49	-20 ^b	873	5,60	92,4	5,3x10 ⁻³	30,9	7,45	3,98	
Oleato de etila	18:1	111-62-6	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310,52	-32 ^b	873	0,58	91,8	4,0x10 ⁻³	31,0	8,51	4,70	
Linoleato de metila	18:2	112-63-0	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294,47	-35 ^b	884	19,8	97,0	1,2x10 ⁻³	31,3	6,82	4,00	
Linoleato de etila	18:2	544-35-4	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308,51	21-24	883	0,91	96,3	4,0x10 ⁻³	31,4	8,29	4,73	

Fonte: dados compilados a partir das referências on-line: ^a www.thegoodscentscompany.com; ^b www.chemspider.com; wtt-pro.nist.gov

Nota: ‡ número de carbonos:número de insaturações (C=C) na molécula do ácido graxo precursor. † Balanço hidrófilo-lipófilo da estrutura molecular dos EAG's.

2.1.1. Efeitos e comportamento no ambiente

Kobitz (1993), *apud* Fontana (2011), destacou no lançamentos de biodiesel no solo e em veios de água sua bio(degradação) a uma taxa 4 vezes superior ao óleo diesel e uma redução praticamente completa (98%) após 21 dias. Resultados similares foram obtidos por Makareviciene e Janulis (2003) para a eficiência da atividade microbiológica na degradação de EMAG's e EEAG's, demonstrando também nos experimentos contendo somente diesel uma eficiência de 61,3%.

O comportamento do biodiesel sobre a sua biodegradabilidade e toxicologia foi avaliado por Peterson e Möller (2005). Esses autores evidenciaram em estudos de respirometria (28 dias), reduções médias na composição de EAG's de 84 e 88% em meio aquoso e solos, respectivamente. Na presença de misturas diesel/biodiesel, o combustível renovável aumentou a taxa de biodegradação de hidrocarbonetos do diesel em duas vezes. Na toxicidade, o biodiesel foi consideravelmente menos tóxico que o diesel, e para misturas diesel/biodiesel a crescente proporção de biodiesel favoreceu maiores valores de EC₅₀ (concentração efetiva para mortalidade ou imobilidade de 50% da população de organismos). Muito embora, a presença de efeitos adversos (negativos) nos organismos teste foram observados tanto no diesel como no biodiesel, ainda que mais intensificado no primeiro combustível.

No sentido de avaliar o potencial (eco)toxicológico do biodiesel, uma variedade de estudos tem propiciado a geração de uma extensa quantidade de resultados experimentais predizendo como o biodiesel B100, suas misturas com o diesel (Bx) e a fração aquosa solúvel se comportam quanto aos efeitos adversos a partir da sua ocorrência no ambiente. Motivadamente, pelos novos propósitos da legislação em vigor intervindo no uso de biodiesel a partir da última década. (LAPINSKIENE; MARTINKUS; REBZDAITE, 2006; POON *et al.*, 2007; KHAN; WARITH; LUK, 2007; HOLLEBONE *et al.*, 2008; NOGUEIRA *et al.*, 2011; MULLER; MELEGARI; MATIAS, 2011; LEME *et al.*, 2011; LEITE *et al.*, 2011; LEME *et al.*, 2012).

Procurando compreender o comportamento do biodiesel em estudos de recuperação e/ou biodegradação de hidrocarbonetos, pesquisas têm demonstrado o seu potencial em aumentar a solubilidade de compostos orgânicos hidrofóbicos (COH's), potencializando os processos de biodegradação.

Miller e Mudge (1997) obtiveram resultados bastante promissores avaliando o potencial do biodiesel em solubilizar *n*-alcanos particionados entre a fase orgânica

(óleo cru) e a fase sólida (amostras de sedimento), sendo uma resposta efetiva na remediação de ambientes marinhos impactados por derramamentos de petróleo. Os autores verificaram um progressivo contato do biodiesel no sistema, aumentando a mobilidade dos *n*-alcanos e indicando o biodiesel como agente na dissolução do óleo bruto com a redução de sua persistência verificada pelo particionamento com a fase sólida. Ressaltaram também a necessidade de estudos futuros para compreender os mecanismos atuantes no biodiesel para dissolução do óleo bruto, facilitando os processos de dispersão, aumento da sua área superficial e favorecendo os processos de biodegradação.

Em outro caso, Wedel (2000) descreve o potencial emprego de um biosolvente preparado a partir de ésteres metílicos de óleos vegetais combinado com aditivos para potencializar a biorremediação, mostrando a sua viabilidade em recuperar fases orgânicas em eventos de contaminação por produtos petrolíferos em ambientes aquáticos. Se avaliadas as misturas diesel/biodiesel, provavelmente, o mesmo comportamento poderá ser verificado, ou seja, um aumento na solubilidade de hidrocarbonetos (diesel) na fração de EMAG's, por ambos constituírem fases orgânicas, portanto, miscíveis.

Prince, Haitmanek e Lee (2008), ao avaliarem a atividade microbiana aeróbia na redução de hidrocarbonetos constituintes do diesel e EMAG's a partir do biodiesel do óleo de soja com experimentos em microcosmos contendo misturas B20 e baixos teores de nutrientes como nitrogênio e fósforo, obtiveram como resultado um potencial efeito dos EMAG's em proporcionarem uma maior acessibilidade da microbiota no consumo de COH's do diesel como fonte de energia. Muito embora, esta discussão não foi abordada e os experimentos contendo somente diesel não foram contemplados para comparação de dados. Os resultados obtidos concluíram uma biodegradação completamente favorecida a partir da análise dos compostos detectáveis (EMAG's, *n*-alcanos, naftênicos e aromáticos) pela técnica cromatográfica empregada, obtendo-se o tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) dos componentes da mistura B20 com valor médio global de 6,4 dias.

Seguindo o raciocínio do biodiesel poder atuar como uma agente dispersante, acelerando processos de remediação, Taylor e Jones (2001) avaliaram o comportamento do biodiesel em experimentos de biodegradação de HPA's em solos a partir do alcatrão do carvão, sub-produto da carbonização do carvão contendo teores elevados de HPA's. Resultados experimentais obtidos após 55 dias de

incubação mostraram uma resposta favorável do biodiesel em tornar biodisponíveis os poluentes estudados, preferencialmente para compostos contendo 2 a 3 anéis benzênicos (HPA's de baixo peso molecular).

O comportamento do biodiesel em promover um aumento na taxa de biodegradação de combustíveis fósseis também foi alvo da pesquisa de Pasqualino, Montané e Salvadó (2006), após realizar uma gama de experimentos contendo somente diesel, biodiesel ou gasolina, e misturas diesel/biodiesel e gasolina/biodiesel em diferentes frações volumétricas de biodiesel e todos na presença de inóculos de lodos ativados obtidos em uma ETA. Os resultados foram bastante conclusivos quanto a biodegradabilidade do biodiesel B100 (98%), diesel (50%) e gasolina (56%) em um período de 28 dias.

Esses autores também avaliaram a crescente adição de biodiesel nas misturas com diesel ou gasolina a partir de um efeito sinérgico, o qual se mostrou positivo em todos os casos, reportando que a presença do biodiesel nas misturas apresentou efeitos de co-metabolismo. Isto promoveu um aumento na taxa de biodegradação da fração correspondente aos combustíveis fósseis nas respectivas misturas. Uma importante observação extraída da conclusão foi a necessidade em se obter dados que permitam compreender a função do biodiesel, principalmente em misturas biodiesel/diesel, em casos de vazamentos de combustíveis derivados do petróleo.

A preocupação com eventos de contaminação da subsuperfície, mais especificamente em relação as águas subterrâneas, também foi discutido por Poon *et al.* (2007) ao discutirem resultados de efeitos toxicológicos da fração aquosa solúvel (WAF) de diferentes amostras de biodiesel em experimentos *in vivo*.

Corseuil e colaboradores (2011) expuseram a relevância de estudos direcionados ao comportamento e os impactos do biodiesel quando da ocorrência de vazamentos na subsuperfície e de potenciais riscos ao lençol freático. A partir de estudos em microcosmos (na presença de água subterrânea e sedimentos locais), os resultados obtidos indicaram disparidade entre a eficiência da atenuação natural do biodiesel metílico do óleo de soja (80%) e do óleo de mamona (40%), após tempos de incubação de, respectivamente, 41 e 92 dias. Uma possível explicação seria o maior valor de viscosidade para o segundo. Além disso, cinéticas de primeira ordem foram obtidas mostrando a taxa de degradação individual dos principais EMAG's da composição dos dois biodieseis sendo superior para o biodiesel do óleo de soja, preferencialmente para os ésteres de cadeia insaturada.

Foi evidenciado ainda que o biodiesel do óleo de soja retardou significativamente a biodegradabilidade de dois hidrocarbonetos frequentemente avaliados em áreas contaminadas (benzeno e tolueno), apontando a necessidade de investigar os potenciais efeitos incidentes da presença do biodiesel. Os autores ainda discutiram, comparativamente, o comportamento do biodiesel em relação ao etanol, uma vez que o segundo é francamente conhecido quanto ao seu efeito de potencializar a solubilidade aquosa de COH's (efeito cosolvência), e ressaltaram a diferença de propriedades físico-químicas como a viscosidade e a solubilidade aquosa, como importantes parâmetros para governar a mobilidade e o potencial migratório na subsuperfície. A Figura 2 retrata os perfis hipotéticos de evolução da pluma de contaminação na presença de etanol (A) e biodiesel (B).

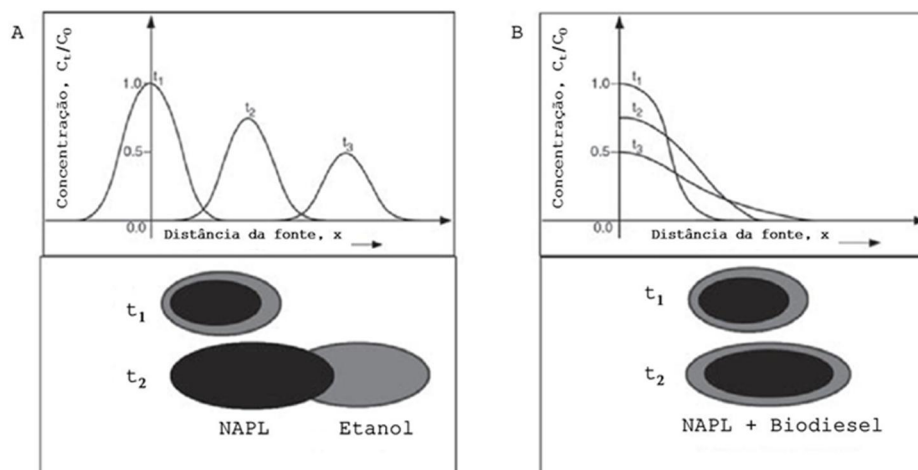


FIGURA 2 – Cenário hipotético dos impactos associados a pluma de contaminação de fases líquidas orgânicas não aquosas (NAPL), em presença de etanol (a) e biodiesel (b). Traduzido de Corseuil *et al.* (2011).

Gong *et al.* (2010) avaliaram a viabilidade de duas amostras de EMAG's (1-biodiesel comercial; 2-biodiesel de óleo de soja preparado em laboratório) como agente solubilizante na remoção de HPA's em solo previamente enriquecido por esses contaminantes e solo coletado em uma área contaminada por HPA's. Os experimentos de bancada evidenciaram remoções no solo enriquecido de 40% até 92%, com eficiência decrescente quando maior o nível individual dos HPA's (200 e 400 mg kg⁻¹), e superior para os HPA's de menor peso molecular, e também quando empregada a amostra 2 de EMAG's. O teor total de HPA's no solo obtido em campo indicou a presença de 12 HPA's prioritários e uma contaminação acentuada (997 mg kg⁻¹). Pelos resultados obtidos, constatou-se a melhor eficiência também para a

amostra 2, removendo até 59% dos HPA's totais e uma não preferência observada em relação ao peso molecular (*MM*) dos HPA's. Dentre outras questões, os autores discutiram o potencial uso de EMAG's como uma fase orgânica capaz de extrair compostos orgânicos do solo, portanto, levando a um aumento da dissolução e dispersão dos HPA's e, inclusive, possível de inibir os importantes processos de sorção quanto ao particionamento a longo prazo dos HPA's com a matéria orgânica.

De fato, o destino, transporte e os potenciais efeitos adversos no ambiente envolvendo a contaminação por biodiesel devem incluir o seu comportamento a partir de suas propriedade físico-químicas, potencial de biodegradação e as suas interações com outros contaminantes como os HPA's (ITRC, 2011). Por fim, o comportamento do biodiesel em promover a solubilização de COH's permite, analisando a estrutura molecular dos EAG's, postular a existência de similaridades com substâncias que apresentam atividade surfactante. Assim como DeMello *et al.* (2007) discutiram a partir dos resultados obtidos em experimentos de dispersão/emulsão na presença de diesel, biodiesel e água do mar.

2.1.2. Surfactantes

A Figura 3 mostra que as moléculas de EAG's são formadas por uma parte de natureza polar ($R'OCO^-$), exemplo dos radicais CH_3OCO^- (EMAG's) e $CH_3CH_2OCO^-$ (EEAG's), e a outra correspondente a porção apolar (-R). Os grupamentos (-R) representam longas cadeias de natureza alifática (AG's), geralmente contendo entre 16 a 18 átomos de carbono ($C_{16}-C_{18}$), (Tabela 3). Este arranjo estrutural é idêntico ao de compostos anfifílicos, apresentando comportamento de surfactantes (ou tensoativos). Quando adicionados em água permitem a formação de agregados moleculares ditos micelas ou ambientes micelares. Sendo o seu interior hidrofóbico e a parte externa, em contato com a água, responsável pelos grupamentos polares ou hidrofílicos (FROEHNER, 1999). Outrossim, uma substância química quando denominada de surfactante, significa assumir que a mesma é ativa em superfícies, ou seja, é caracterizada pela sua tendência de adsorver em superfícies e interfaces (HOLMBERG *et al.*, 2003). Na Figura 4, os diferentes tipos de agregados formados a partir dos agentes tensoativos são caracterizados.

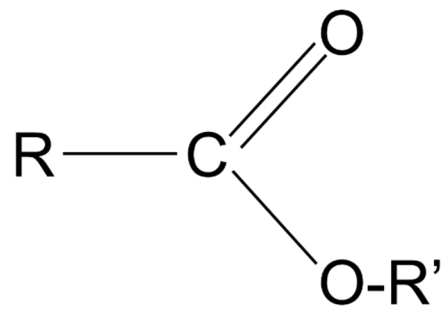


FIGURA 3 – Estrutura generalizada de um éster de ácido graxo.

A eficácia de uma determinada estrutura molecular com atividade surfactante depende essencialmente do equilíbrio molecular entre ambas as funcionalidades, hidrófila e hidrófobo (MYERS, 2006). Em solução aquosa, tensoativos são frequentemente associações de colóides, isto é, eles tendem à formação de micelas constituídas por agregados de dimensões coloidais existentes em equilíbrio com as moléculas ou íons a partir dos quais são formados (MYSELS; MUKERJEE, 1979).

Cordes e Dunlap (1969) descrevem exatamente o mesmo comportamento citado acima para os EAG's. Segundo os autores, os agentes tensoativos capazes de formarem agregados (micelas) em solução aquosa são moléculas do tipo RX, sendo R a porção hidrofóbica e X o contribuinte do grupo hidrófilo. São classificados segundo a natureza do grupo X, agrupando os surfactantes quanto ao seu tipo: catiônicos, aniônicos, anfóteros ou não-iônicos. Para EAG's, as características estruturais das moléculas indicam similaridades com tensoativos não iônicos justamente pela ausência de cargas (positivas ou negativas).

A formação de micelas ocorre a partir de uma faixa específica de concentração da substância com potencial atividade tensoativa, denominada concentração micelar crítica (CMC), ou ainda concentração de agregação crítica (CAC). Neste estudo, o termo CAC foi adotado para interpretação dos resultados obtidos. No entanto, aplicou-se o termo CMC na revisão de literatura.

Citando Huibers *et al.* (1996), a CMC é a concentração na qual as micelas aparecem pela primeira vez na solução. Segundo esses autores, a CMC é uma propriedade do agente tensoativo extremamente útil por relacionar as atividade das moléculas de surfactante em solução nas superfícies e interfaces.

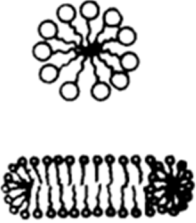


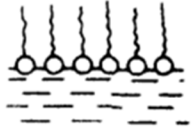
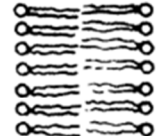

Características	Micelas	Micelas Inversas	Micro Emulsões	Monocapas	Bicapas	Vesículas
Constituinte	Tensoativo	Tensoativo	Tensoativo, co-tensoativo, solvente apolar	Tensoativo	Tensoativo com duas caudas	Tensoativo com duas caudas
Método de preparação	dissolver o tensoativo [$>CMC$] em água	Dissolver o tensoativo em sovente apolar	Dissolver o tensoativo e co-tensoativo numa mistura de solventes apolar-água	Dissolver os tensoativos livres em solvente orgânico volátil sobre a superfície aquosa	Dissolver os tensoativos livres em solvente orgânico sobre um furo que conecta duas soluções aquosas	Submetendo a solução a ultrasom
Estrutura						
Peso molecular médio	2000-6000	2000-6000	10^5-10^6	Depende da área coberta e da densidade da capa formada ϵ	Depende da área e da densidade coberta da bicapa formada ϵ	$>10^7$
Diametro (A)	30-60	40-80	50-100			300-10000
Estabilidade	Semanas, meses	Semanas, meses	Semanas, meses	Horas, dias	Horas	Semanas
Diluição em água	São destruídas	Formam micro emulsões aq/o	o/aq + água = micelas aquosas aq/o + água = separação de fases	São destruídas	São destruídas	Não se alteram

FIGURA 4 – Ilustração das principais características dos diferentes tipos de agregados formados a partir do agente tensoativo. Extraído de Maniasso (2001).

Dessa forma, é esperado que a capacidade de tais agentes de superfície em reduzir a tensão superficial ou interfacial relacione-se diretamente com a CMC, a qual também tem importância em estudos termodinâmicos ao relacionar-se com a energia livre de formação dos agregados/micelas (ΔG_{ag}).

Mukerjee e Mysels (1971) citam que a formação de micelas a partir de seus monômeros envolve uma dinâmica rápida e um equilíbrio associação-dissociação.

Neste contexto, os ambientes micelares podem induzir a ocorrência de mudanças favoráveis em constantes de equilíbrio e propriedades espectrais, inibir reações indesejáveis como hidrólise e fotólise, derivatizar reagentes e produtos, acelerar reações desejadas a partir da catálise micelar, co-solubilizar compostos polares e apolares, dentre outros (ROMERO *et al.*, 2005).

Dentre a origem dos surfactantes, discretizada entre naturais e derivadas a partir de destilados do petróleo, uma das principais e mais importantes fontes renováveis são os AGs, além de EAG's de açúcares ou de amidas de aminoácidos. Além de uma ampla variedade de surfactantes contendo a função orgânica éster avaliados em diferentes estudos e destinos de aplicação, assemelhando-se àquela que caracteriza a composição do biodiesel, inclusive quanto à potencialidade de biodegradabilidade quando presentes no ambiente (JOHANSSON; SVENSSON, 2001; HOLMBERG, 2001; FERRER *et al.*, 2002; MYERS, 2006; BECERRA *et al.*, 2008). A seguir, a Figura 5 exemplifica a formação de micelas para um modelo generalizado de tensoativo, existentes a partir da CMC. Para concentrações superiores apresentam-se em equilíbrio dinâmico com seus monômeros. Em destaque também uma representação típica de uma micela esférica em co-existência com seus precursores.

A parte apolar da molécula de surfactante (cauda), tal como as cadeias C₁₆-C₁₈ dos EAG's, possibilita a sua interação com fases não aquosas/imiscíveis como os hidrocarbonetos componentes do diesel. Por outro lado, a parte polar (cabeça) permite buscar uma condição de equilíbrio entre o sistema com a fase aquosa (MYERS, 2006). Na presença de estruturas dessa natureza, componentes orgânicos fortemente apolares como os HPA's podem migrar e serem solubilizados no interior das micelas (parte hidrofóbica), mantendo-se ativa a parte polar da molécula. Isto promove um aumento na solubilidade aquosa favorecida pela presença de agregados estruturais notadamente característicos entre monômeros de compostos anfifílicos (EDWARDS; LUTHY; LIU, 1991).

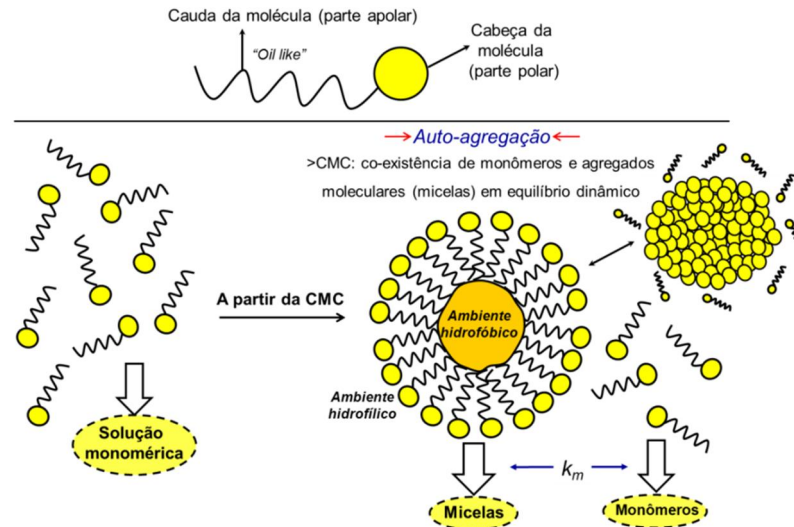


FIGURA 5 – Esquema generalizado da co-existência de ambientes micelares e monômeros em meio aquoso, fundamentado pelo fenômeno de auto-agregação. *Fonte:* o autor (2012).

Um modelo esquemático sobre o comportamento de equilíbrio em ambientes micelares é mostrado na Figura 6. Nota-se que o equilíbrio existente entre os monômeros de um surfactante $[S_m]$ na solução de trabalho $[S_m^b]$ e na interface ar-solução $[S_m^i]$, é representado pelo coeficiente de distribuição k_d^1 . Havendo um aumento na concentração do surfactante, ambos, $[S_m^b]$ e $[S_m^i]$ também se elevam, mantendo k_d^1 constante. No momento que ocorre a saturação da interface ar/solução com monômeros do surfactante, notando que a adsorção é favorável a partir da parte polar das moléculas, um aumento de $[S_m]$ após esta condição limite conduz então a auto-agregação dos monômeros o que permite manter inalterado $[S_m^b]$, preservando k_d^1 . Dessa forma, um novo equilíbrio é alcançado entre $[S_m^b]$ e a fase de agregados monoméricos (micelas), $[S_m^a]$, descrevendo uma nova distribuição k_d^2 iniciada a partir da CMC (CHAKRABORTY; CHAKRABORTY; GHOSH, 2011).

Mysels e Mukerjee (1979) citam que existe uma faixa de concentração relativamente pequena separando o limite abaixo do qual, virtualmente, as micelas não são detectadas e o limite superior a partir do qual praticamente todos os agentes tensoativos formam micelas. Os valores de CMC obtidos dependem da propriedade empregada assim como do método, que deve ser claramente especificado, permitindo, dessa forma, elevar a qualidade dos dados obtidos experimentalmente. Ressalta-se que os valores da CMC são muito dependentes da sensibilidade do(s) método(s) utilizado(s).

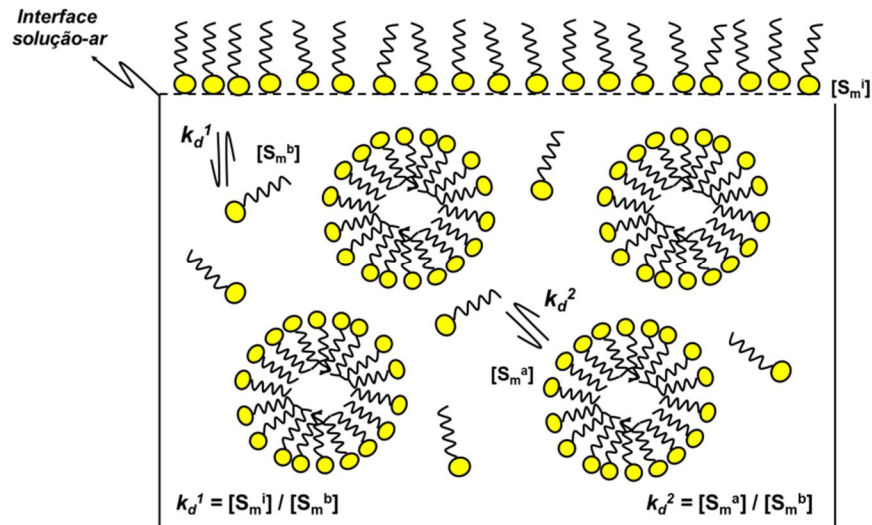


FIGURA 6 – Esquema de ambientes micelares e os equilíbrios existentes (k_d^1 e k_d^2). Adaptado de Chakraborty; Chakraborty; Ghosh, 2011.

Em linhas gerais, a existência da CMC está associada com alguma forma acentuada de descontinuidade observada em um estreito intervalo de concentração molar do tensoativo.

A sua determinação pode relacionar diferentes propriedades físicas do agente tensoativo (surfactante). Como pode ser notado na Figura 7, no interior da faixa cinza o comportamento da curva (crescente ou decrescente) é alterado conforme cada propriedade estudada. Na prática, a CMC pode ser obtida hipoteticamente pela intersecção de duas retas (exemplo das linhas vermelha e alaranjada) a partir dos dados obtidos e métodos de regressão linear simples, as quais representam a variação nos sinais da propriedade avaliada em função da concentração do surfactante.

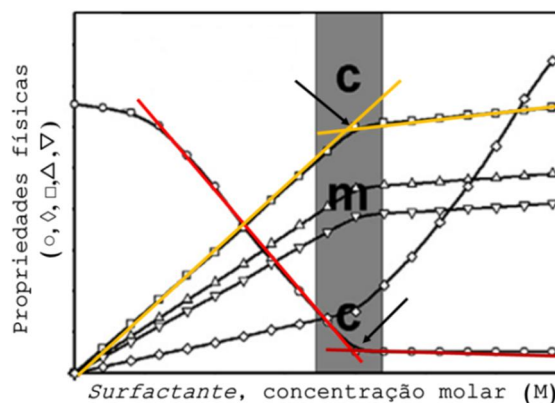


FIGURA 7 – Determinação da CMC. As diferentes curvas representam exemplos hipotéticos do comportamento de diferentes propriedades físicas avaliadas (Adaptado de Chakraborty; Chakraborty; Ghosh, 2011).

Dentre os métodos aplicados na determinação da CMC citam-se: tensão superficial, condutividade elétrica, dispersão de luz (turbidez), difração de raio-X, ressonância magnética nuclear (RMN), coeficiente de difusão, pressão osmótica, viscosidade, mudanças espectrais na região do UV-Visível, como solubilização e/ou micelização de corantes, ou ainda na intensidade de sensores com atividade fluorescente como o pireno (CORDES; DUNLAP, 1969; MUKERJEE; MYSELS, 1971; CHAKRABORTY; CHAKRABORTY; GHOSH, 2011).

A. Tensão superficial (γ)

A medida da tensão superficial (γ) é um dos métodos comumente associados com o princípio da atividade surfactante. Isso significa que para os surfactantes adsorverem em uma interface é necessário romper a elevada força de coesão entre as moléculas de água (resultado da ligação intermolecular por pontes de hidrogênio). Em baixas concentrações os monômeros do surfactante impedem o grau das ligações intermoleculares na interface ar/solução levando a uma gradativa diminuição da tensão interfacial (e conseqüentemente da energia livre) com o aumento da concentração do surfactante até a saturação completa da interface. Nesse momento, é observada uma quebra no perfil tensiométrico (γ vs. concentração do surfactante ou γ vs. $\log c$), indicativo da auto-agregação dos monômeros (ou micelização) para formação das micelas (CMC) a partir da qual os valores de γ permanecem inalterados (Figura 8). Complementa-se que a tensão superficial equivale a tensão interfacial representada pela energia livre interfacial por unidade de área existente na interface ar/solução (HOLMBERG *et al.*, 2002; CHAKRABORTY; CHAKRABORTY; GHOSH, 2011).

Ainda na Figura 8 é possível verificar a quebra no perfil tensiométrico, permitindo, dessa forma, determinar os valores para a CMC pela intersecção entre as duas retas ajustadas linearmente aos dados experimentais.

Distintos métodos aplicam-se à determinação dos valores de γ , como o distanciamento do anel de du Nouy, equilíbrio ou distanciamento da placa de Wilhelmy e o peso da gota (volume ou forma), (MUKERJEE; MYSELS, 1971).

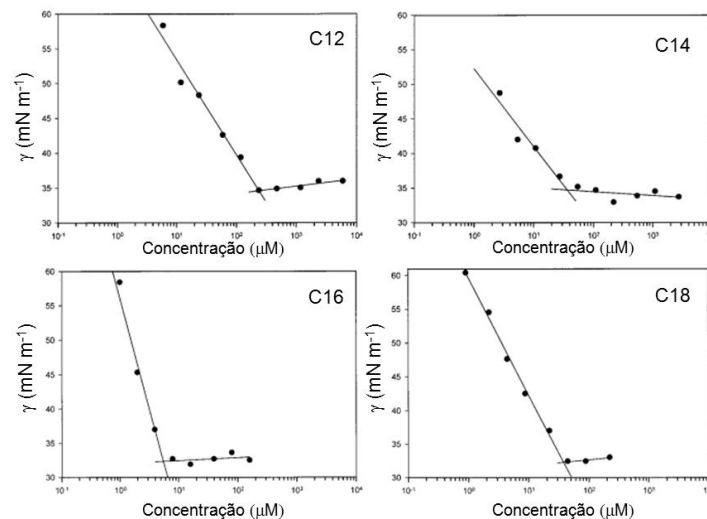


FIGURA 8 – Determinação da CMC a partir de medições de tensão superficial (γ) exemplificado para EAGs de açúcares: mono-ésteres de maltose dos ácidos láurico (C12), mirístico (C14), palmítico (C16) e esteárico (C18). Traduzido e adaptado de Ferrer *et al.*, (2002).

Outras propriedades podem ser avaliadas a partir do comportamento de γ , tal como a área ocupada pelas moléculas de surfactante adsorvidas na interface água:ar saturada (A), dependente do número de Avogrado (N_A , $6,023 \times 10^{23}$ moléculas) e da máxima concentração de moléculas do surfactante adsorvidas na interface saturada (Γ , mol cm^{-2}). Esse último, uma segunda propriedade função da máxima inclinação da reta ($d\gamma/d \log c$) logo após a CMC, da constante universal dos gases (R), temperatura e número de espécies dissociativas do surfactante (n), (FERRER *et al.*, 2002). Ademais, o emprego de γ como estimador do número de moléculas do surfactante em uma micela, denominado número de agregação (N_{ag}), (EDWARDS; LUTHY; LIU, 1991; WÜSTNECK; ENDERS; FIEDLER, 1994).

B. Absorção no UV-Visível

O emprego desse método permite avaliar o comportamento de substâncias susceptíveis a mudanças espectrais como os corantes. Quando adicionados em pequenas quantidades, acusam diferenças nos espectros obtidos para soluções diluídas de concentração inferior a CMC e concentrações superiores que permitem a micelização. (MUKERJEE; MYSELS, 1971). Um ponto característico é a presença de cromóforos na estrutura molecular desses sensores químicos, sendo uma função da

polaridade do meio passível de detectar alterações, por exemplo, pelo comprimento de onda máximo de absorção (GRIESER; DRUMMOND, 1988).

Segundo Romero *et al.* (1995), mudanças espectrais são produzidas quando o grupamento cromóforo do sensor químico se liga no sistema por meio de interações hidrofóbicas ou eletrostáticas, resultando em alterações no seu microambiente.

Para muitos casos, adota-se o emprego de corantes insolúveis em meio aquoso, tal como o Orange OT (1-*o*-tolil-azo-2-naftol), os quais são dissolvidos significativamente na presença das micelas. Para soluções diluídas do agente tensoativo estudado, não são esperadas alterações na absorção de energia como na região característica de mínima transmissividade, de tal maneira que a CMC possa ser determinada extrapolando os dados plotados e ajustando-os linearmente (valores a partir da CMC) para absorvância zero (momento em que as micelas coexistem em equilíbrio dinâmico com seus monômeros), (SCHOTT, 1966).

Similarmente, o mesmo comportamento pode ser estudado para a determinação da CMC avaliando-se a solubilidade do pireno na porção hidrofóbica das micelas (ZHENG; ZHAO, 2006). O pireno, característico do grupo de hidrocarbonetos poliaromáticos, não representa necessariamente um corante. Mas um sensor químico com características distintas aplicado na investigação de mudanças na polaridade do meio estudado (NAKAJIMA, 1977), exemplo da sua solubilidade em ambientes micelares. Resultados satisfatórios de seu emprego na determinação de propriedades micelares como a CMC, por meio de absorção na região UV, têm sido relatados na literatura (RAY; CHAKRABORTY; MOULIK, 2006).

Estudos recentes permitiram verificar que a solubilização envolvendo, principalmente, o emprego de corantes se mantém como um método consolidado e frequentemente empregado no estudo de substâncias de natureza anfifílica (ZHENG; ZHAO, 2006; RAY; CHAKRABORTY; MOULIK, 2006; BIELSKA; SOBCZYNSKA; PROCHASKA, 2009; BAGHA; SINGH; HOLMBERG, 2013).

Além do emprego de sensores químicos de natureza apolar, insolúveis no meio aquoso, outras propriedades podem ser investigadas nos estudos de absorção no UV-Vis. A citar as mudanças espectrais pela presença de isomeria, alterando o equilíbrio químico entre os isômeros e servindo como parâmetro da formação de ambientes micelares (DOMÍNGUEZ *et al.*, 1997; BAGHA; SINGH; HOLMBERG, 2012) e alterações nas propriedades do equilíbrio ácido-base de azo-corantes na presença de concentrações de surfactante inferiores e superiores à CMC (ROMERO *et al.*, 1991).

Ainda, propriedades como o peso molecular das micelas e N_{ag} , também avaliadas a partir dos métodos de solubilização com detecção no UV-Vis (SCHOTT, 1966; JACOBS; GEER; ANACKER, 1972).

C. Dispersão de luz a partir de medições de turbidez (τ)

A turbidez (τ) pode ser definida como um sinal interferente a partir da passagem de um feixe de luz, obtido pela presença de partículas suspensas ou coloidais que reduzem a transparência do meio aquoso. Dentre as unidades para mensurar τ , temos a unidade nefelométrica de turbidez (NTU) avaliada a partir de equipamentos denominados nefelômetros ou turbidímetros. Essa propriedade, bastante consolidada em estudos de monitoramento de qualidade de águas naturais, representa uma expressão da propriedade óptica relacionando a dispersão e absorção de luz, em vez de ser transmitida sem nenhuma mudança de direção (linha reta) ou de nível de fluxo através da amostra (APHA, 1998). A Figura 9 ilustra o sistema óptico para um turbidímetro modelo (HACH® 2100P).

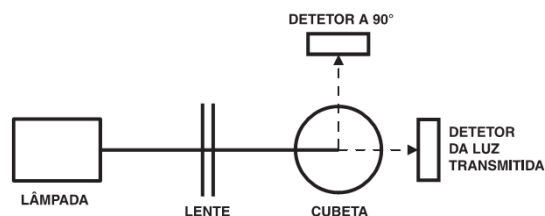


FIGURA 9 – Sistema óptico para um turbidímetro modelo HACH® 2100P.

O método consiste da relação entre o sinal nefelométrico (90°) da luz dispersada e a luz transmitida. Se maior o espalhamento/dispersão da luz, maior o sinal obtido para τ . Destaca-se que o detetor e o sistema de filtro devem apresentar uma resposta espectral com sinal de pico entre 400-600 nm.

Como importantes fatores que podem afetar as medições de τ temos: a deterioração da fonte de luz, as lentes, células para amostragem, número de detetores, limpeza interna do equipamento, susceptibilidade a vibrações e a interferências eletrônicas e estabilidade nas leituras (HACH; VANOUS; HEER, 1989, *apud* LIBÂNIO, 2005).

Nos estudos envolvendo ambientes micelares, originados da auto-agregação de monômeros de moléculas surfactantes, o emprego de τ na determinação da CMC é avaliada de forma bastante simples (Figura 10), a partir das coordenadas (x,y) de intersecção das duas retas obtidas por regressão linear simples plotando-se os dados obtidos experimentalmente. Valores abaixo da CMC (soluções diluídas) apresentam uma leve inclinação da reta, abruptamente aumentada após a CMC (MUKERJEE; MYSELS, 1971).

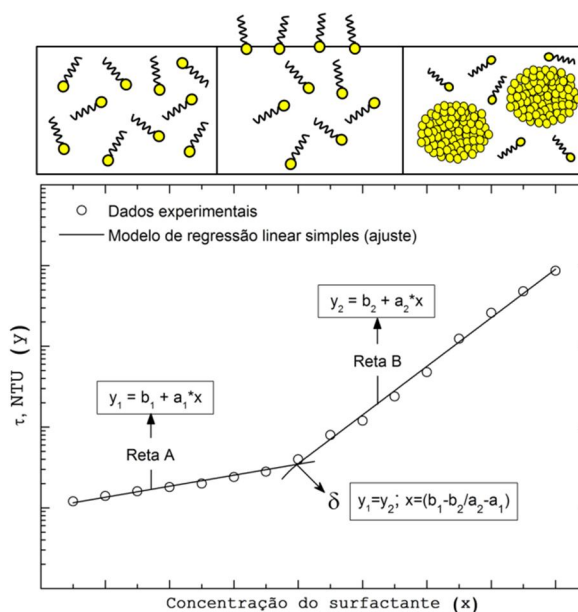


FIGURA 10 – Modelo de regressão linear demonstrando o fenômeno de auto-agregação em soluções monoméricas a partir do ponto de descontinuidade (δ) fornecido pela intersecção entre as retas A e B. Fonte: o autor (2012).

Na Figura 10, o ponto representativo da CMC foi denominado ponto de descontinuidade (δ). Assim, a alteração do comportamento de τ na solução indica o aparecimento de uma espécie representativa de uma dispersão da luz significativamente maior do que os valores de τ observados nas soluções monoméricas (MYERS, 2006). O fenômeno de auto-agregação é o responsável pela micelização das moléculas do agente tensoativo.

Segundo Khan (2007), soluções aquosas em presença de ambientes micelares dispersam a luz (mudança no comportamento de τ), e, portanto, essa propriedade fornece provas conclusivas para a formação de agregados ou micelas do surfactante estudado.

Zhai *et al.* (2005), realizaram medições de turbidez, dentre outras propriedades, em misturas de surfactantes para avaliar a transição entre diferentes tipos de agregados estruturais, obtendo informações a cerca de mudanças na dispersão de luz devido à presença desses nos experimentos realizados. Em outro caso, Abed, Saxena e Bohidar (2004), empregaram a técnica de turbidez como um dos métodos avaliados no estudo da micelização de uma surfactante aniônico. A turbidez foi empregada na determinação da CMC. Foi constatado que abaixo de um valor limiar, os sinais pouco variaram, porém, uma alteração no declive do gráfico indicou o início da micelização e a possível determinação da CMC.

Myers (2006) relata que além da determinação da CMC a partir de medições de τ , os dados experimentais podem ser empregados para avaliar o peso molecular médio, tamanho da micela, além de algum fator de forma/geometria.

D. Índice de polaridade pela emissão de fluorescência

Grieser e Drummond (1988) destacam que dentre os sensores fluorescentes aplicados no estudo de propriedades físico-químicas de sistemas envolvendo agregados moleculares/micelas (ex.: CMC, N_{ag}), os compostos orgânicos aromáticos são os mais comumente empregados.

A fluorescência é um fenômeno luminescente ou um caso particular denominado de fotoluminescência. Diferentes substâncias ao absorverem radiação eletromagnética (fóton) em um determinado comprimento de onda são excitadas atingindo um estado eletrônico superior, podendo voltar, então, ao estado fundamental com a emissão de fluorescência, ou ainda seguir outros caminhos de desexcitação. Devido à influência do meio envolvente sobre a emissão de fluorescência, as moléculas com características fluorescentes são reconhecidas como sensores, largamente empregados na investigação de sistemas físico-químicos, bioquímicos ou biológicos (VALEUR, 2002).

Segundo Ananthapadmanabhan *et al.* (1985), a espectrofluorometria no estudo da micelização de agentes tensoativos é um método que deve empregar uma determinada substância hidrofóbica com propriedades fluorescentes e dependente das propriedades do meio de solubilização. Além de apresentar sensibilidade a polaridade do meio, levando a comportamentos diferentes de fluorescência em ambientes micelares e não micelares.

Um desses sensores é o pireno, conhecido como um sensor de regiões hidrofóbicas, muito embora, apresenta sensibilidade à polaridade tornando-o muito útil (VALEUR, 2002). É o que Nakajima (1977) retratou ao avaliar o comportamento espectral do pireno na água e em soluções aquosas do surfactante dodecil sulfato de sódio, investigando os efeitos do solvente (água) e a natureza do ambiente micelar. Referenciou em sua pesquisa estudos anteriores que demonstraram uma acentuada variação na estrutura vibracional do espectro de fluorescência do pireno decorrente da alta polaridade da água. Indicando-o como um sensor a ser adotado na investigação e/ou alterações na polaridade do meio para diferentes solventes.

Craig, Kirk e Rodgers (1977) também confirmaram para ambientes micelares que o pireno é fortemente afetado pela polaridade das moléculas de água que penetram profundamente na porção micelar correspondente ao sensor. Neste caso, os autores aprofundaram-se no conhecimento sobre propriedades do pireno em diferentes solventes, (tempo de vida de fluorescência, rendimento quântico e decaimento radiativo).

Kalyanasundaram e Thomas (1977) ao intensificarem detalhadamente a perturbação nas bandas vibracionais do pireno, promovida pelos solventes, evidenciaram a ocorrência de 5 picos predominantes, os quais, por conveniência, foram numerados de I a V e as variações das intensidades das diferentes bandas normalizadas em relação a banda I (denominada 0-0). Representam os seguintes comprimentos de onda (nm): 372 (I, 0-0), 379 (II), 383 (III), 388 (IV) e 393 (V). Os autores observaram que o pico III mostrou as máximas variações sobre a banda 0-0 (I). Com o aumento da polaridade do solvente, o pico I demonstra um aumento significativo de intensidade comparando ao pico III. Dessa forma, adotaram a razão entre os picos III/I (ou 3:1) em função da concentração de agentes tensoativos como método aplicado em estudos envolvendo ambientes micelares. Dado que na presença de micelas, o pireno é solubilizado na porção hidrofóbica (núcleo) alterando o comportamento da razão III/I e destacando a sua distinta dependência do solvente na intensidade das bandas vibracionais.

Karpovich e Blanchard (1995), *apud* Valeur (2002), explicam que as alterações relativas na intensidade das bandas vibracionais no seu espectro de fluorescência é originada na extensão das vibrações entre o 1º (fraca) e 2º (forte) estado de excitação, e que interações dipolo induzido-dipolo entre o solvente e o pireno desempenham um papel importante. Isso significa dizer que a polaridade do solvente determina a

extensão quando um momento de dipolo induzido é formado pelas distorções vibracionais do respectivo hidrocarboneto poliaromático.

Analisando o emprego do pireno como sensor fluorescente, verifica-se, na realidade, o emprego da razão inversa, ou seja, I/III (1:3) denominada índice de polaridade do pireno.

Diferentes estudos têm explorado e discutido o emprego do método I/III (ANANTHAPADMANABHAN *et al.*, 1985; HONDA *et al.*, 2003; AGUIAR *et al.*, 2003; RAY; CHAKRABORTY, MOULIK, 2006; YAN; LI; ZHAO, 2010; HALASOVÁ *et al.*, 2011; ALAN *et al.*, 2013).

A Figura 11 indica um modelo generalizado de uma típica curva sigmoidal, obtida devido à formação de domínios apolares (núcleo hidrofóbico das micelas) a partir da solubilização micelar das moléculas de pireno.

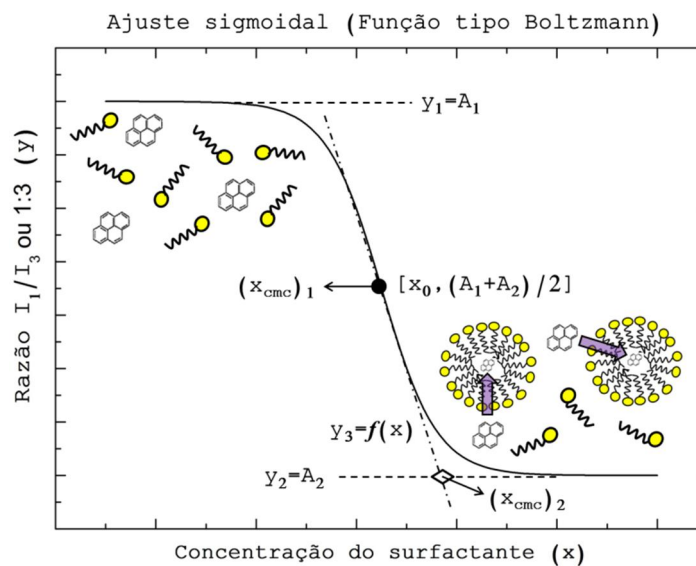


FIGURA 11 – Modelo generalizado do ajuste sigmoidal decrescente a partir da função tipo Boltzmann e os parâmetros característicos da regressão, além dos pontos $(x_{cmc})_1$ e $(x_{cmc})_2$, respectivamente, a posição central do sigmóide e a intersecção das linhas $y_2=A_2$ e $y_3=f(x)$. Adaptado de Aguiar *et al.* (2003).

Aguiar *et al.* (2003) abordam que o comportamento do índice de polaridade do pireno (I/III) pode ser descrito adequadamente por um modelo de ajuste sigmoidal decrescente pela função tipo Boltzmann, obtida por:

$$y = \{(A_1-A_2)/1+\exp[(x-x_0)/\Delta_x]\}+A_2 \quad (\text{Eq. 1})$$

Em que y é a razão pireno I/III (1:3), a variável independente x representa a concentração molar do surfactante (M), A_1 e A_2 são os limites superior e inferior da sigmóide, x_0 é o ponto de inflexão (centro da sigmóide), Δx relaciona o intervalo da variável x onde observa-se a descontinuidade da variável y (I/III).

Os autores indicam dois pontos singulares que podem fornecer o valor da CMC, denominados $(x_{CMC})_1$ e $(x_{CMC})_2$. O primeiro é obtido como parâmetro do ajuste sigmoidal (Eq. 1). Já o segundo valor $(x_{CMC})_2$ é determinado analiticamente pela intersecção da reta ($y_2=A_2$) com a tangente que passa pelo centro da sigmóide – no gráfico a função linear $y_3 = a + bx$. Dessa forma, a partir da inclinação de y_3 dado por:

$$(dy/dx) = A_2 - A_1 / 4\Delta x ; x = x_0 \quad (\text{Eq. 2})$$

A equação linear para y_3 , considerando que a tangente passa pelo centro da sigmóide (x_0, y_0) torna-se:

$$y_3 = (A_1 + A_2 / 2) + (A_1 - A_2 / 4\Delta x)x_0 - (A_1 - A_2 / 4\Delta x)x \quad (\text{Eq. 3})$$

Igualando-se a Eq. 3 ($y_3=f(x)$) com $y_2=A_2$, e provendo as simplificações necessárias, o valor de $(x_{CMC})_2$ é obtido a partir de:

$$(x_{CMC})_2 = x_0 + 2\Delta x \quad (\text{Eq. 4})$$

2.1.2.1. Agentes solubilizantes de interesse ambiental

A capacidade de diferentes surfactantes em atuarem como agentes solubilizantes de COH's no meio aquoso é um relevante tópico desta pesquisa, e seu estado da arte é descrito na sequência.

Ivey (2006) ao descrever sobre o emprego de surfactantes como uma tecnologia de remediação (do inglês, *Surfactant Enhanced Aquifer Remediation*), ressaltou a capacidade desses em desorver e promover a dissolução de compostos orgânicos na interface surfactante:água:fase orgânica. Isso possibilita aumentar a solubilidade aquosa com redução significativa da tensão superficial (γ), permitindo melhorar o desempenho de outros tratamentos como a biorremediação. Uma vez que o

surfactante na sua natureza anfifílica, em condições controladas, aumentam a biodisponibilidade de COH's como fonte de energia para os microorganismos. Além disso permite, com a redução de γ , aumentar a transitividade da água, ou seja, torna-se mais eficaz a penetração da água no substrato do solo responsável pelo sequestro de COH's.

A Figura 12 mostra um esquema dos caminhos que podem ocorrer na biodegradação de HPA's presentes na composição de uma fase líquida orgânica não aquosa, estruturados pela presença da atividade surfactante.

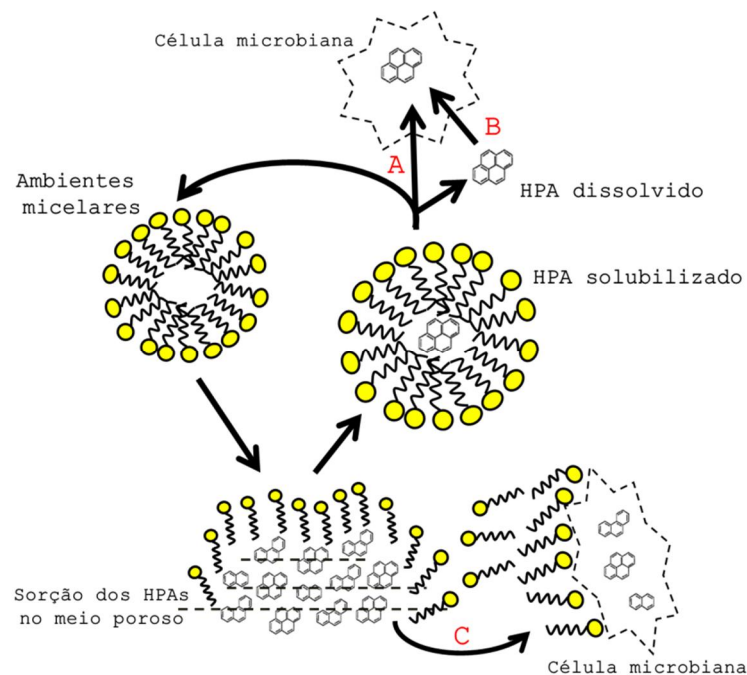


FIGURA 12 – Incorporação de HPA's em ambientes micelares e os possíveis caminhos de biodisponibilidade dos contaminantes para a comunidade microbiana/biodegradação (A, B, C). Adaptado de Schippers *et al.* (2000).

Na abordagem **A**, os contaminantes são solubilizados/particionados no núcleo das micelas, sendo os microorganismos capazes de interagir com o mesmo através da fusão com a membrana celular. Em **B**, os microorganismos consomem apenas os HPA's que contribuem alterando a concentração de equilíbrio na fase aquosa e o papel dos surfactantes é aumentar a transferência de massa para a fase dissolvida. Já no caso **C**, a presença de tensoativos interagindo entre as fases da subsuperfície permite alterar a hidrofobicidade celular, levando a um contato direto das células de microorganismos ou a sua adsorção nas partículas do solo com os HPA's (SCHIPPERS *et al.*, 2000).

A presença de ambientes micelares como substrato para o particionamento de COH's tornando-os biodisponíveis na fase aquosa, pode ser avaliado por meio de modelagem matemática. Isto torna possível traçar cinéticas da atividade de biodegradação por meio de processos de transferência de massa, as quais representam relações complexas ocorrendo na sorção da molécula surfactante sobre a superfície da célula microbiana (GUHA; JAFFÉ, 1996; BROWN, 2007).

A transformação microbiológica de hidrocarbonetos é importante no ambiente, assumindo-os como compostos poluentes ou iniciadores de processos biológicos de mineralização/bioremediação, havendo ainda efeitos relacionados à taxa de dissolução quando do emprego de substâncias com atividade co-solvente (miscibilidade favorável no meio aquoso) ou surfactante (agentes ativos na superfície na presença de emulsões), (SIKKEMA; BONT; POOLMAN, 1995).

Butler e Hayes (1998) avaliaram o comportamento da solubilidade de dois COH's selecionados como modelos de uma fase não aquosa e seu particionamento em sistemas de fase de equilíbrio água:surfactante não iônico:fase orgânica. Dentre os resultados obtidos pelos autores, o emprego de surfactantes em concentrações superiores a CMC possibilitaram a solubilidade micelar (SM_i) dos COH's, aumentando linearmente a sua concentração na fase aquosa.

Em outro estudo, Schippers *et al.* (2000) constataram a viabilidade de um biosurfactante não iônico (soforolipideo) em aumentar a solubilidade do fenantreno.

Ficou evidenciado a SM_i do HPA no meio aquoso, porém, em sistemas contendo 10% de solo em suspensão, a concentração de surfactante necessária para promover SM_i foi cerca de 28 vezes acima da observada em meio aquoso. Além disso, em experimentos de biodegradação com adição do biosurfactante notou-se um aumento na biodisponibilidade e, conseqüentemente, na degradação do HPA estudado. Destacaram ainda a importância de processos de sorção entre moléculas de surfactante e partículas de solo.

Neste sentido, cabe destacar a compreensiva revisão elaborada por Laha, Tansel e Ussawarujikulchai (2009) frente aos principais processos envolvendo o comportamento do surfactante em promover o aumento na mobilidade de COH's, o particionamento entre fase sólida e fase aquosa, além da discussão envolvendo os coeficientes de partição que governam este tipo de fenômeno.

Os efeitos da SM_i para diferentes surfactantes de natureza iônica e não iônica (sintéticos e biosurfactantes), em geral associado a COH's como os HPA's, têm sido

reportados por diferentes autores, datados, principalmente, a partir da década de 1990 até estudos recentes (EDWARDS; LUTHY; LIU, 1991; YEOM *et al.*, 1995; GUHA; JAFFÉ; PETERS, 1998; LI; CHEN, 2002; PRAK; PRITCHARD, 2002; ZHOU; ZHU, 2004; ZHAO *et al.*, 2005; MOHAMED; MAHFOODH, 2006; RAO; PARIA, 2009; ZHOU *et al.*, 2011; MASRAT; MASWAL; DAR, 2013).

A capacidade de agentes tensoativos em solubilizar COH's e favorecer seu particionamento para o meio aquoso pode ser avaliado a partir de parâmetros intrinsecamente associados as variáveis experimentais. Exemplos desses são a relação molar de solubilização (RMS) e o coeficiente de partição micela-água (K_m), a saber (EDWARDS; LUTHY; LIU, 1991):

$$RMS = (S_x - S_{CMC}) / (C_s - CMC) \quad (\text{Eq. 5})$$

$$K_m = X_{m,i} / X_{a,i} \quad (\text{Eq. 6})$$

Em que S_x é a solubilidade aparente total do soluto na solução surfactante para uma determinada concentração acima da CMC, S_{CMC} é a solubilidade aparente do soluto na CMC, C_s é a concentração do surfactante em que S_x foi avaliada. Hill e Ghoshal (2002) definiram RMS como sendo o número de mols do soluto solubilizado no interior das micelas/agregados para cada mol do tensoativo adicionado na solução, no equilíbrio. Na Eq. 7, $X_{m,i}$ e $X_{a,i}$ representam a fração molar de um determinado soluto i nas fases micelar e aquosa, respectivamente, descrevendo K_m como o coeficiente de distribuição de COH's, por exemplo, entre ambas as fases. O valor de $X_{m,i}$ é obtido pela relação $RMS / (1 + RMS)$ e $X_{a,i}$ pode ser aproximado para soluções diluídas a partir da razão S_{CMC} / V_w , sendo V_w , o volume molar da água ($0,01805 \text{ L mol}^{-1}$, $25 \text{ }^\circ\text{C}$). Substituindo ambos na Eq. 6 tem-se:

$$K_m = RMS / [(1 + RMS) S_{CMC} V_w] \quad (\text{Eq. 7})$$

Uma significativa contribuição dos estudos envolvendo a SM_i tem sido relatada para os HPA's, compostos de interesse nesta pesquisa.

O emprego de biosurfactantes não iônicos (neste caso a saponina) e o seu papel na solubilidade aquosa de diferentes HPA's foi recentemente avaliado por Zhou e colaboradores (2011). Os resultados indicaram uma tendência linear no aumento de SM_i para os HPA's sendo proporcional ao aumento nos valores de k_{ow} (maior

hidrofobicidade). Os autores também relacionaram o comportamento observado com os resultados obtidos para RMS e K_m .

Na mesma direção, Sales, Rossi e Fernández (2011) obtiveram resultados conclusivos para SM_i a partir do aumento linear na solubilidade aquosa de HPA's (naftaleno e fenantreno), destacando a eficiência de tensoativos não iônicos e misturas de tensoativos (micelas mistas) e o emprego dos parâmetros RMS e K_m na análise dos dados.

Mais recentemente, a SM_i de HPA's também foi investigada no sentido de compreender a competição existente para o caso de misturas de HPA's, permitindo prever a solubilização e co-solubilização desses compostos para diferentes agentes tensoativos (MASRAT; MASWAL; DAR, 2013).

Em linhas gerais, a atividade surfactante permite reduzir a tensão interfacial entre as fases imiscíveis, aumentando, portanto, a miscibilidade de COH's na fase aquosa através da criação de superfícies adicionais. A partir dessa abordagem envolvendo a potencial atividade dos surfactantes em solubilizar COH's, prioriza-se a necessidade e importância em determinar e conhecer os valores de CMC ou CAC, uma vez que representa um dos principais objetivos no desenvolvimento deste projeto de pesquisa envolvendo os EAG's (biodiesel).

2.2. HIDROCARBONETOS DO PETRÓLEO

Um modelo da classificação dos tipos moleculares de hidrocarbonetos (em %) nos derivados do petróleo cru, segundo a faixa média para o ponto de ebulição respectivo de cada um, é mostrado na Figura 13 (SELLEY, 1998), assim como uma representação da composição orgânica relacionada aos constituintes do óleo diesel, através de suas estruturas moleculares (a-h). Na Tabela 3 são apresentadas algumas características físico-químicas do óleo diesel.

Os hidrocarbonetos de interesse nesta pesquisa são os HPA's – hidrocarbonetos policíclicos aromáticos – existentes na composição molecular do diesel, estando, por sua vez, diretamente associados a ocorrência de derramamentos acidentais, vazamentos e disposição inadequada deste combustível fóssil no percurso de toda a sua cadeia produtiva.

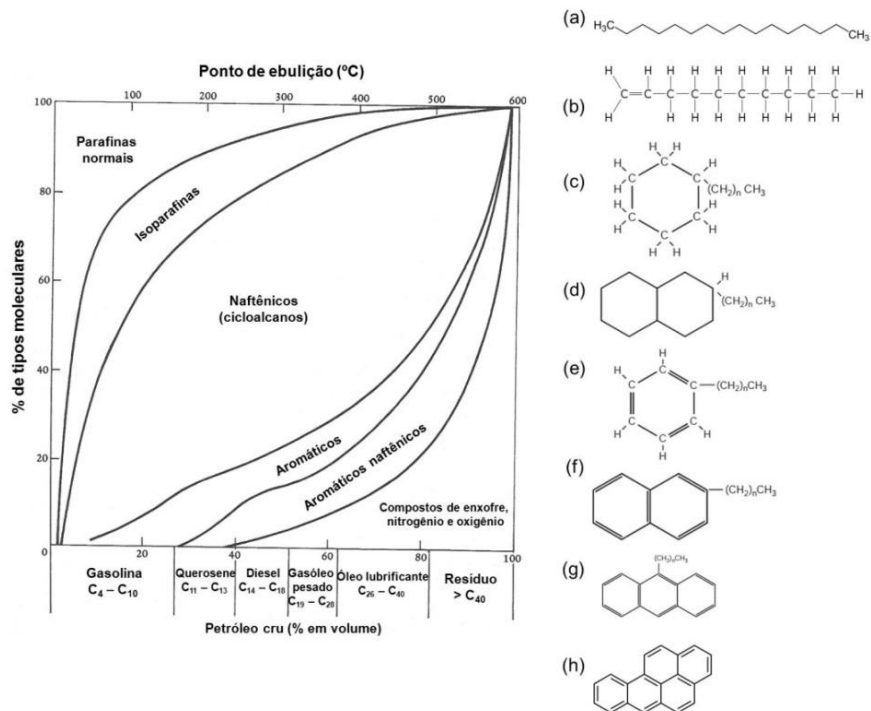


FIGURA 13 – Distribuição (%) dos tipos de hidrocarbonetos nos principais derivados do petróleo. Traduzido e adaptado de Selley (1998). As estruturas ao lado direito representam constituintes do óleo diesel: (a) parafínicos (*cetano*); (b) olefinas (*1-deceno*); (c) naftênicos (*derivados do ciclohexano*); (d) alquilbenzenos; (e) alquilnaftalenos; (f) derivados da decalina (*naftênicos*); (g) aromáticos cíclicos (*derivados do HPA antraceno*); (h) HPA's (*BaP*).

TABELA 3 – Propriedades físico-químicas do óleo diesel.

Propriedades	Símbolo	Óleo diesel	Unidade
Fórmula ^a	-	~ C ₈ -C ₂₅	-
Massa molar ^a	<i>MM</i>	~200,0-220,0	g mol ⁻¹
Massa específica a 20/24 °C ^a	ρ	0,80-0,89	g ml ⁻¹
Viscosidade cinemática a 40 °C ^a	ν	2,6-4,1	mm ² s ⁻¹
Pressão de vapor ^a	<i>P_v</i>	1,4x10 ³	Pa
Ponto de ebulição ^b	-	150-390	°C
Ponto de fulgor ^a	PF	73,9	°C
Solubilidade em água a 20 °C ^c	<i>S_w</i>	< 1	mg L ⁻¹
log <i>k_{ow}</i> ^d	-	3,3-7,1	-

Fonte: ^a API (1993), *apud* Kaipper (2003).

^b IARC (1989).

^c Pichtel (2007).

^d ITRC (2011).

2.3. HPA's

Por definição, os HPA's são formados pela fusão de dois ou mais anéis benzênicos estruturados por carbono e hidrogênio. A sua produção e ocorrência no ambiente seguem diferentes caminhos a partir de fontes naturais e/ou antropogênicas, destacando, em específico, a liberação de HPA's por fontes pontuais como

vazamentos e derramamentos de combustíveis (BOEHM, 2005), caracteristicamente uma fonte petrogênica de HPAs que difere das fontes pirogênicas como a combustão incompleta ou ineficiente de biomassa.

Muito embora ocorra uma lista possível de centenas de HPA's, os compostos comumente avaliados no ambiente se restringem a faixa de 2 a 6 anéis aromáticos (C₁₀-C₂₂). Uma preponderância de compostos de 2 a 4 anéis está associado ao petróleo, podendo representar entre 0,2-7% em peso (BOEHM, 2005).

Considerando os destilados do petróleo empregados no refino, os HPA's possuem teores inferiores a 5%, atingindo máximos de 10% (IARC, 1989). No óleo diesel, a presença desses polinucleares limita-se, por exemplo, a 11% (m m⁻¹) pela Norma Européia EN 590 (2004). Dobbins *et al.* (2006) relatam que no diesel, as espécies de HPA's devem ocorrer na faixa de 1-3% do teor total de hidrocarbonetos.

A intervenção da agência ambiental norte-americana (US EPA) regulamentou os HPA's de maior preocupação ambiental (Figura 14), (KEITH; TELLIARD, 1976; BOEHM, 2005).

A lista dos 16 HPA's prioritários encontra-se globalmente difundida e largamente aplicada em estudos de contaminação por HPA's nos diferentes compartimentos ambientais, inclusive como ameaça potencial para a saúde pública por serem reconhecidos como agentes cancerígenos e/ou mutagênicos, bem como seus metabólitos (LOPES e ANDRADE, 1996; NETTO *et al.*, 2000; LIDE, 2005; MA *et al.*, 2010; IARC., 2010).

Uma vez que são ubíquos no ambiente, estão presentes no ar, águas continentais e oceânicas, solos e sedimentos em nível traço, exceto quando nas proximidades das fontes. Também estão presentes na exposição ocupacional de trabalhadores, em particular com processos industriais que envolvem a pirólise ou combustão do carvão, produção e utilização de produtos derivados do carvão, planta de gás manufacturado, além de extratos de fuligem, pavimentação e cobertura de superfícies (IARC, 2010).

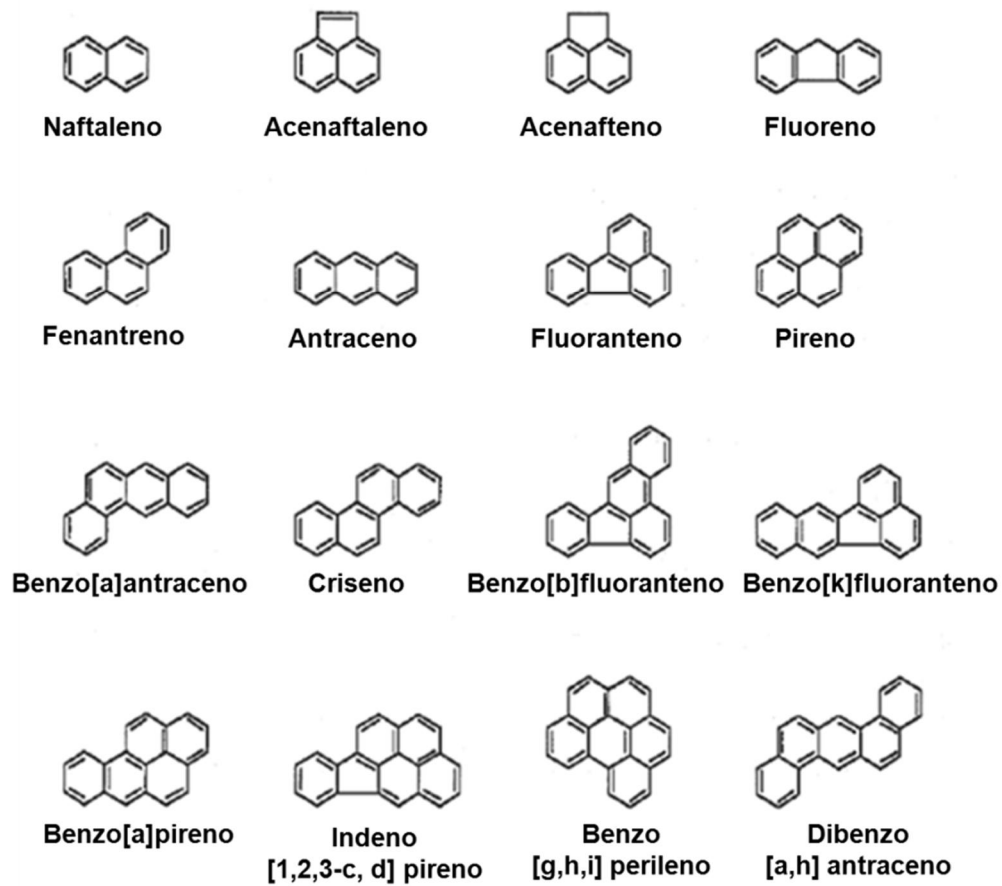


FIGURA 14 – Estrutura molecular dos 16 HPA's prioritários listados pela agência ambiental norte-americana (US EPA), sub-classificados em HPA's de baixo peso molecular (2-3 anéis aromáticos) e HPA's de alto peso molecular (4-6 anéis aromáticos).

Na Tabela 4 é apresentada uma completa descrição das principais propriedades físico-químicas dos HPA's quanto ao seu comportamento e ocorrência no ambiente.

Sobre os principais hidrocarbonetos de preocupação ambiental presentes na composição de combustíveis líquidos, esses representam, face aos efeitos toxicológicos existentes e comportamento bem definido pelas suas propriedades físico-químicas no ambiente, riscos potenciais à segurança da saúde pública e ao ambiente (PEDROSO *et al.*, 2002). A citar os riscos de inflamabilidade, volatilidade, exposição à solos e águas subterrâneas contaminadas e vapores tóxicos, dentre outros (GOUVEIA; NARDOCCI, 2007), concomitantemente aos procedimentos a serem estabelecidos para o gerenciamento da qualidade dos solos devido à presença destas substâncias químicas (CETESB, 2001; CONAMA, 2009).

TABELA 4 – Propriedades físico-químicas dos HPA's. Em negrito, os HPA's avaliados como modelo de contaminante neste estudo.

HPA	CAS	Fórmula Molecular ^a	MM ^a	Pf ^a	ΔS_m^a	F ^{a,1}	P _v ^{a,1}	k _{Henry} ^c	S _w		log k _{ow} ^a	log k _{oc} ^d
		C _n H _k	g mol ⁻¹	°C	[J (mol K) ⁻¹]	-	P _{v-sub} (Pa)	[(Pa m ³) mol ⁻¹]	(mg L ⁻¹) ^{b,1}	μM		
Naftaleno	91-20-3	C₁₀H₈	128,17	80,1	54,3	0,300	38,02	48,9	32,9	256,7	3,40	3,11
Acenaftaleno	208-96-8	C ₁₂ H ₈	152,19	92,1	37,8	0,360	2,57	11,6	16,1 ^c	105,8	3,85	3,40
Acenafteno	83-32-9	C ₁₂ H ₁₀	154,21	93,3	58,5	0,200	1,74	15,7	3,90	25,3	3,95	3,66
Fluoreno	86-73-7	C ₁₃ H ₁₀	166,22	114,7	49,9	0,165	0,54	7,8	1,68	10,1	4,11	3,76 ^c
Fenantreno	85-01-8	C₁₄H₁₀	178,23	99,0	45,9	0,255	0,10	3,7	1,18	6,62	4,47	4,15
Antraceno	120-12-7	C₁₄H₁₀	178,23	216,8	58,3	0,021	5,89x10⁻²	7,2	0,04	0,22	4,57	4,15
Fluoranteno	206-44-0	C ₁₆ H ₁₀	202,25	109,0	49,5	0,203	6,76x10 ⁻³	1,1	0,21	1,04	4,97	4,58
Pireno	129-00-0	C₁₆H₁₀	202,25	150,4	38,2	0,183	4,17x10⁻³	1,1	0,13	0,64	5,01	4,58
Benzo[a]antraceno	56-55-3	C ₁₈ H ₁₂	228,29	158,8	50,6	0,086	3,80x10 ⁻⁴	1,2	0,0090	0,0394	5,83	6,14
Criseno	218-01-9	C ₁₈ H ₁₂	228,29	257,0	49,2	0,026	1,35x10 ⁻⁴	0,53	0,0018	0,0079	5,67	5,30
Benzo[b]fluoranteno	205-99-2	C ₂₀ H ₁₂	252,31	168,2	57,9	0,049	1,05x10 ⁻⁵	0,05	0,0015	0,0059	5,86	5,74
Benzo[k]fluoranteno	207-08-9	C ₂₀ H ₁₂	252,31	212,4	56,0	0,026	7,76x10 ⁻⁶	0,04	0,0008	0,0032	5,86	5,74
Benzo[a]pireno	50-32-8	C ₂₀ H ₁₂	252,31	179,0	35,8	0,159	7,94x10 ⁻⁶	0,03	0,0016	0,0063	6,05	6,74
Indeno[1,2,3-cd]pireno	193-39-5	C ₂₂ H ₁₂	276,33	163,0	49,4	0,086	6,61x10 ⁻⁷	0,03	0,0002	0,0007	6,57	6,20
Benzo[g,h,i]perileno	191-24-2	C ₂₂ H ₁₂	276,33	247,7	31,7	0,127	4,57x10 ⁻⁷	0,03	0,0003	0,0011	6,63	6,20
Dibenzo[a,h]antraceno	53-70-3	C ₂₂ H ₁₄	278,35	269,5 ^c	57,3 ^c	0,004 ^c	-	0,008	0,0005	0,0018	6,50 ^c	6,52

Fonte: ^a Ma *et al.* (2010).

^b IARC (2010).

^c Mackay *et al.* (2006).

^d Chu e Chan (2000).

Nota: ¹ Temperatura ambiente (25 °C).

Apresentam, portanto, padrões de qualidade ambiental por meio de valores guia restritivos de intervenção limitando, por exemplo, a concentração máxima permitida em águas servidas para abastecimento humano (WHO, 2011). No território brasileiro, a Portaria N.º. 2914/2011, vigente no controle e vigilância da qualidade de toda água destinada para consumo humano e padronizando a sua potabilidade, dispõe de valor máximo permitido (VMP) apenas para o benzo[a]pireno (agente carcinogênico), Tabela 5.

TABELA 5 – Valores máximos permitidos (VMP) da Portaria N.º 2914/2011, nível máximo de contaminante (MCL) regulamentado pela agência ambiental norte americana (US EPA) e valores guia dispostos pela Organização Mundial da Saúde (WHO) e Austrália, para padrão de potabilidade do benzo[a]pireno.

Substância química	VMP – Portaria N.º. 518/2004 ^a	MCL US EPA ^b	Valor guia WHO ^c	Valor guia Austrália ^d
Benzo[a]pireno (BaP), $\mu\text{g L}^{-1}$	0,7	0,2	0,7	0,01

Fonte: ^a Ministério da Saúde (2011); ^b 40 CFR 141 (2002); ^c WHO (2011); ^d NHMRC (2011).

No âmbito das normas reguladoras aplicadas na fiscalização de solos e águas subterrâneas, a Resolução CONAMA N.º. 396/2008 que vigora no enquadramento das águas subterrâneas em classes e atribuição dos VMP relacionados aos parâmetros de maior probabilidade de ocorrência lista primordialmente HPA's de alto peso molecular e VMP na água para consumo humano de $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$. Em relação aos valores orientadores de qualidade do solo, a Resolução CONAMA N.º. 420/2009 é a referência nacional, que junto à CONAMA N.º. 396/2008 permite diagnosticar como é recente a busca por consolidação de metas aplicadas ao gerenciamento de áreas contaminadas no Brasil. Na Tabela 6 constam os valores de investigação (VI) para águas subterrâneas dos HPA's reconhecidos pela CONAMA N.º. 420/2009, assim como os valores de referência (VR) normatizados pelo Decreto N.º. 1190/2004 da Prefeitura Municipal de Curitiba.

TABELA 6 – Valores de investigação (VI) e valores de referência (VR) de HPA's para águas subterrâneas dispostos, respectivamente, pela Resolução CONAMA N.º. 420/2009 e pelo Decreto N.º. 1190/2004 (município de Curitiba) como valores orientadores.

HPA	Naph	Phen	Anth	Flu	Pry	BaA	Cry	BkF	BaP	IPry	BghiP	DahA
VI ($\mu\text{g L}^{-1}$) ^a	140	140	-	-	-	1,75	-	-	0,7	0,17	-	0,18
VR ($\mu\text{g L}^{-1}$) ^b	10	5,0	5,0	1,0	100	0,5	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	-

Nota: ^a Concentração de HPA na água subterrânea acima da qual existem riscos potenciais, diretos ou indiretos, à saúde humana, considerando um cenário de exposição padronizado.

^b Concentração de referência dos HPAs para fins de avaliação ambiental no caso de uso do solo residencial, APA, comercial ou serviços. Para uso do solo industrial os valores são mantidos, exceto o Naph ($70 \mu\text{g L}^{-1}$).

2.3.1. Comportamento dos hidrocarbonetos na subsuperfície

Por definição, sabendo que a subsuperfície consiste de um meio poroso composto de uma matriz sólida e espaços vazios (preenchidos por um ou mais fluidos), as águas subterrâneas são designadas como toda a água encontrada no subsolo da superfície terrestre (Figura 15).

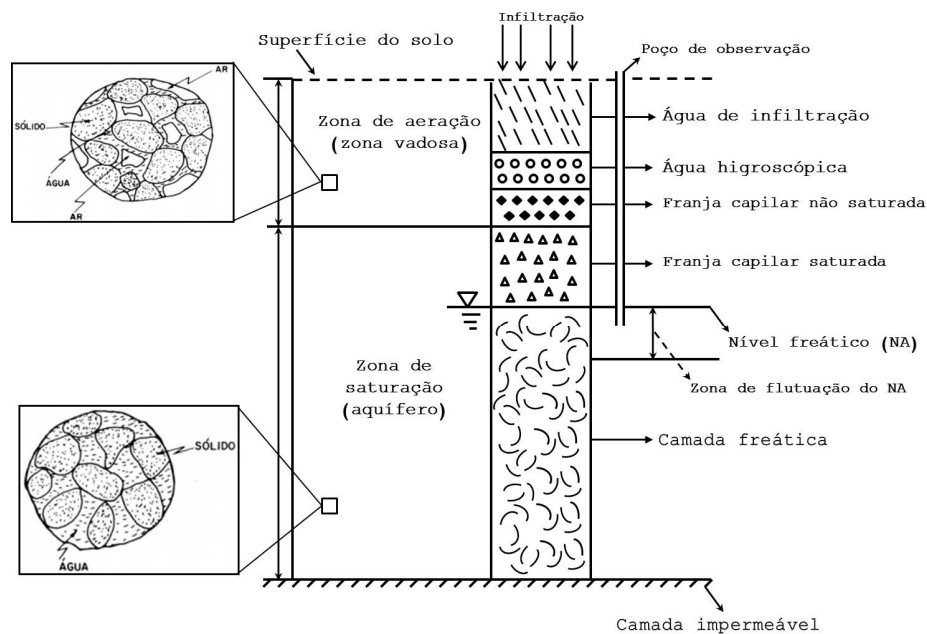


FIGURA 15 – Representação das zonas existentes na subsuperfície associadas à distribuição de água. *Fonte:* o autor, com adaptação a partir de Fill e Mine (1989).

As plumas de contaminação orgânica na subsuperfície são uma nova fase no meio (*NAPL*, fase orgânica não aquosa). Para COH's menos densos que a água denomina-se *LNAPL*, havendo sua migração/propagação horizontalmente pela zona vadosa, eventualmente, acumulando-se no lençol freático e com movimentação segundo o gradiente de velocidade das águas subterrâneas (ATSDR, 1999; BEAR; CHENG, 2010).

Um modelo de contaminação por *LNAPL* é ilustrado na sequência (Figura 16), exemplificando uma contaminação característica procedente do vazamento de óleo diesel. Vale destacar que esse modelo de contaminação também deve ser representativo da presença de biodiesel na subsuperfície (ITRC, 2011).

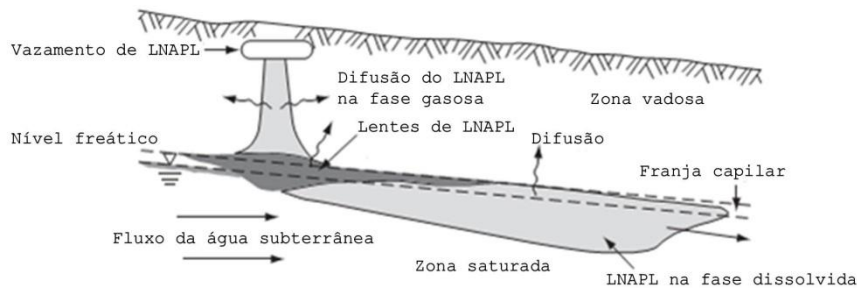


FIGURA 16 – Modelo de um vazamento de *LNAPL* na subsuperfície. Traduzido e modificado de Bear e Cheng (2010).

A fase não aquosa permite formar finas camadas ao longo da franja capilar e as flutuações do lençol freático possibilitam a distribuição vertical do *NAPL* residual, dissolvendo-se na água subterrânea circundante. No caso da franja capilar, a presença de forças capilares e de viscosidade mostram que o residual de *LNAPL* aprisionado torna-se imóvel sob típicos gradientes hidráulicos.

Esse comportamento caracteriza-se pela liberação de quantidades relativamente pequenas, ou seja, o *LNAPL* migra pela zona vadosa, uma fração dos COH's é retida na franja capilar como fases residuais aprisionadas nos poros do solo e o seu transporte cessa no esgotamento da massa de fase móvel. Na presença de uma fonte contínua, essa pode hidrostáticamente deprimir a franja capilar e o lençol freático. Uma vez cessada a fonte, a migração ocorre lateralmente, a pressão hidrostática do *LNAPL* é removida e o lençol freático pode eventualmente ser recuperado. Nota-se também o comportamento migratório da pluma em função da concentração na fase dissolvida e ressalta-se que (*L*)*NAPLs* são fases multicomponentes, havendo uma ampla distribuição das propriedades químicas. A partir da contribuição da recarga por parte da precipitação, a percolação da água possibilita o contato com o *LNAPL* residual ou móvel, formando componentes solúveis responsáveis pela propagação da pluma de contaminação na fase aquosa (GELLER; HUNT, 1993; NEWELL *et al.*, 1995).

Dessa forma, os COH's podem alcançar a zona saturada na forma dissolvida ou através de fases líquidas orgânicas imiscíveis em água, sendo transportados sob as forças de gravidade e de capilaridade (MACKAY, ROBERTS, CHERRY, 1985; ATSDR, 1999).

Aspectos da hidrogeologia local, taxa de liberação do *NAPL* e viscosidade do óleo são decisivos quanto a infiltração, propagação e destino de COH's na subsuperfície (ATSDR, 1999). Além disso, o transporte e a transferência de massa

envolvem diferentes processos físicos, químicos e biológicos que possibilitam uma redução gradativa nos níveis de contaminação (BEAR; CHENG, 2010), além da relação com as propriedades físico-químicas dos COH's na mistura e/ou individualmente (PEDROSO *et al.*, 2002).

Os principais mecanismos de transporte são: advecção, dispersão e atenuação. Nos dois primeiros têm-se processos hidrodinâmicos com taxas de transferência segundo os fluxos das águas subterrâneas. Na advecção os contaminantes seguem os vetores de fluxo no espaço 3D, guardando uma estreita relação com a velocidade de percolação da água no solo. A dispersão é responsável por reduzir a concentração de contaminantes no fluido de percolação pela dispersão hidrodinâmica e difusão molecular. Na primeira, restrições de fluxo no meio poroso do solo reduzem a velocidade de propagação dos componentes mais viscosos. No segundo, o fenômeno associa-se intrinsecamente com a diluição dos componentes solúveis, permitindo aumentar a mobilidade do *NAPL*. Por fim, as reações químicas ou físico-químicas que permitem reduzir os níveis de contaminação originados no transporte advectivo e processos dispersivos, descrevem os processos de atenuação (AZAMBUJA; CANCELIER; NANNI, 2000).

Os componentes do *NAPL* comportam-se como contaminantes não conservativos, uma vez que a subsuperfície é conducente em potencializar reações (KNOX; SABATINI, 1992). Exemplifica-se o efeito da viscosidade de diferentes *NAPLs* na biodegradabilidade de HPA's presente na fase não aquosa (BIRMAN; ALEXANDER, 1996). Ainda, o comportamento da dissolução considerando as complexas interações na partição *NAPL*:água, estando os componentes da fase orgânica associados à processos de troca que podem ou não limitar o seu transporte, indicam a necessidade de modelar os fenômenos sobre os mecanismos de transferência de massa (SCHLUEP *et al.*, 2001).

Não obstante, destaca-se o efeito de compostos orgânicos que apresentam atividade co-solvente como o etanol (aditivo na gasolina), particionado preferencialmente em água. No entanto, capaz de afetar a migração e distribuição de constituintes da fase *NAPL*, podendo aumentar a solubilidade aquosa de COH's de relevante preocupação ambiental, bem como a pluma de contaminação na fase dissolvida (RAO; LEE; WOOD, 1991; POWERS *et al.*, 2001; CORSEUIL; KAIPPER; FERNANDES, 2004; SCIORTINO, 2008). Podem também influenciar significativamente nos processos de atenuação como a biorremediação natural,

retardando a redução nos níveis de contaminação de COH's devido ao seu efeito inibitório. Isso leva, conseqüentemente, a períodos maiores de duração de plumas de contaminação ainda mais persistentes na subsuperfície (CORSEUIL; ALVAREZ, 1996; SILVA; ALVAREZ, 2002; MA; RIXEY; ALVAREZ, 2012). O efeito de co-solvência também foi recentemente explorado para o lactato de etila, um éster etílico de cadeia curta ($C_5H_{10}O_3$), quanto ao particionamento de HPA's para a fase aquosa, comparativamente a experimentos realizados com etanol (YAP; GAN; NG, 2012).

Predizer a migração da pluma de contaminação requer, além das descrições que circundam as fontes de COH's, representações quantitativas dos fenômenos de transporte e taxas de decaimento por processos de sorção e de transformação. Ainda, as interações multicomponentes do *NAPL*, as taxas de conversão e produtos de biotransformação, bem como os efeitos da complexa distribuição dos contaminantes sob a microbiota local e os fluxos de dissolução são prioritárias na subsuperfície (MACKAY, ROBERTS, CHERRY, 1985).

A partição do (*L*)*NAPL* entre as fases potenciais na zona vadosa e seus mecanismos (Figura 17), também deve ser considerado. Nesse caso, os constituintes do *LNAPL* podem particionar ou mover-se de uma fase para a outra do meio poroso, dependendo diretamente das condições ambientais de contorno e descritos por coeficientes de partição. Ressalta-se que estes coeficientes empíricos dependem das propriedades dos materiais na subsuperfície e do *NAPL* (NEWELL *et al.*, 1995).

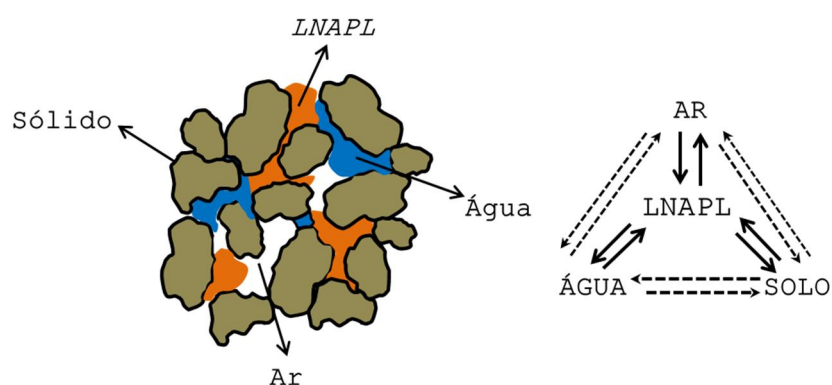


FIGURA 17 – Representação dos quatro estados físicos (lado esquerdo) presentes para um caso de contaminação por (*L*)*NAPL* na zona não saturada (zona vadosa) e possíveis mecanismos de partição na subsuperfície (lado direito). Adaptado de Newell *et al.* (1995).

Segundo Seitinger, Baumgartner e Schindlbauer (1994), conhecer o comportamento sobre a contaminação por vazamento de petróleo e/ou derivados é de extrema importância para sua avaliação e análise de risco da contaminação.

Neste sentido, propriedades físico-químicas como a pressão de vapor (P_v), solubilidade em água (S_w), constante da Lei de Henry (k_{Henry}), coeficientes de partição octanol-água (k_{ow}) e carbono orgânico-água (k_{oc}) são usualmente requeridas para prever a distribuição de poluentes orgânicos no ambiente, sendo aplicadas também como importantes variáveis de entrada em modelos matemáticos que simulam o destino e comportamento de COHs. Ressalta-se, no caso dos HPA's, que nas últimas décadas intensificaram-se os estudos e investigações das fontes, do comportamento de transporte de longo alcance, o destino global, as relações de partição entre partículas, ar, água e materiais orgânicos e o comportamento de processos de sorção desses poluentes (MA *et al.*, 2010).

Enfim, as propriedades físico-químicas são parâmetros fundamentais no que concernem os problemas de contaminação subsuperficial por COH's. Na sequência, é revisado o detalhamento matemático para a solubilidade aquosa (S_w), dado a relevância desse parâmetro no desenvolvimento experimental dessa pesquisa.

2.3.1.1. Solubilidade

A solubilidade aquosa (S_w) representa umas das propriedades mais importantes que afetam o destino e transporte de substâncias químicas no ambiente.

No caso de COH's, destacam-se as misturas multicomponentes de fases orgânicas líquidas não aquosas (NAPL), muito embora, individualmente, parte dos seus componentes apresentam-se na sua forma pura e à temperatura ambiente no estado sólido como é o caso dos HPAs (LIU *et al.*, 2012).

A solubilidade não somente afeta o limite para o qual uma determinada substância é solubilizada por um solvente ou uma fase, mas também é determinante no padrão de sua distribuição entre quaisquer dois solventes ou fases de interesse.

É reconhecido que S_w de COH's deve variar mais amplamente devido às suas estruturas moleculares e composição química do que as solubilidades correspondentes em uma determinada fase orgânica. De fato, no caso dos HPA's isto pode ser verificado pela notória redução de S_w com o aumento da cadeia carbônica e, conseqüentemente, do peso molar (MM), Tabela 5.

Conceitualmente, S_w para os componentes do NAPL é a concentração de equilíbrio na água em contato com o NAPL (FITTS, 2002). É fundamental ressaltar que para solutos quando líquidos à temperatura ambiente, a solubilidade em um

solvente (ou uma fase) é determinada pelo grau de compatibilidade entre soluto-solvente. Por outro lado, para substâncias sólidas em condições ambientais de temperatura, a solubilidade também é afetada pela energia necessária para vencer a transição sólido-líquido (*efeito de ponto de fusão*). Essas características sugerem que tanto o nível potencial de contaminação como o padrão de distribuição podem variar extensivamente para diferentes fontes ou tipos de COHs (CHIOU, 2002).

No caso dos HPA's, o comportamento da solubilidade aquosa na subsuperfície, equilibrada com a fase *NAPL*, é determinada pela solubilidade dos compostos no estado líquido, denominada solubilidade sub-resfriada (S_{w-sub}), um estado hipotético do líquido, diferente de S_w (fase sólida), (LEE *et al.*, 1992; MA *et al.*, 2010; LIU *et al.*, 2012).

Visando compreender a solubilidade do *NAPL* e, conseqüentemente, dos HPA's, a teoria é detalhada na sequência (BANERJEE, 1984; MILLER *et al.*, 1985; LEE *et al.*, 1992; SCHLUEP *et al.*, 2001 CHIOU, 2002; SCHWARZENBACH; GSCHWEN; IMBODEN, 2003; MA *et al.*, 2010; LIU *et al.*, 2012).

Assumindo uma liberação de diesel (modelo de *NAPL*) na subsuperfície é possível estimar o coeficiente de partição líquido-líquido ($K_{o/w}$) definido como:

$$K_{o/w} = C_o/C_w \quad (\text{Eq. 8})$$

Sendo C_o e C_w as concentrações no equilíbrio do componente de interesse no diesel (f_{org}) e na água (f_{aq}), respectivamente. No caso da partição líquido-líquido, o equilíbrio termodinâmico é definido pela igualdade entre os potenciais químicos em f_{aq} e f_{org} . Pela convenção da Lei de Raoult para coeficientes de atividade resulta:

$$a_i = X_i \gamma_i \quad (\text{Eq. 9})$$

Em que a_i , X_i e γ_i são, respectivamente, atividade, fração molar e coeficiente de atividade de um componente i (soluto) em uma determinada fase. Direcionando para o equilíbrio líquido-líquido (Eq. 8) obtemos:

$$a_o = a_w$$

$$X_{o,i} \gamma_{o,i} = X_{w,i} \gamma_{w,i} \quad (\text{Eq. 10})$$

Onde os subscritos *o* e *w* representam diesel e água, portanto, retratam as frações molares e os coeficientes de atividade de um componente orgânico *i* na fase orgânica em equilíbrio com a fase aquosa.

No caso do soluto se comportar idealmente na fase orgânica, o valor de $\gamma_{o,i}$ é a unidade ($\gamma_{o,i}=1$), assumindo também que as interações intermoleculares no sistema solvente -soluto são similares às interações solvente-solvente e soluto-soluto em seu estado puro. Acrescenta-se também que a presença de outros componentes na fase aquosa deve ser ignorada.

É importante destacar que para uma adição de pequenas quantidades de solutos em um solvente não acarreta em mudanças radicais de qualquer propriedade extensa do solvente uma vez que alterou ligeiramente a sua fração molar. Por outro lado, as propriedades de um soluto podem ser alteradas substancialmente na medida que avança do componente na forma pura para sua presença na forma de solução diluída (CHIOU, 2002).

Assim, a concentração de equilíbrio de um componente *i* do diesel na fase aquosa (C_w) pode ser calculada/estimada pela simplificação da Lei de Raoult em condições de idealidade envolvendo o equilíbrio entre duas fases:

$$C_{w,i} = X_{o,i} \gamma_{o,i} S_{w,i} \approx X_{o,i} S_{w,i} \quad (\text{Eq. 11})$$

A aproximação obtida na Eq. 11 também assume que a fração molar do soluto ou componente (no caso de um líquido orgânico) no diesel ($X_{o,i}$) aproxima-se de 1 ($X_{o,i} \rightarrow 1$), considerando que a mesma é pequena na fase aquosa (X_w) ou suficientemente diluída. Assim, obtém-se da Eq. 10 que $\gamma_w = 1/X_w$ ou $1/S_w$.

O cálculo de $X_{o,i}$ pode ser realizado da seguinte maneira:

$$X_{o,i} = (C_{o,i} MM_o) / (\rho_o MM_i) \quad (\text{Eq. 12})$$

Em que $C_{o,i}$ (mg L⁻¹) e MM_i correspondem a concentração e a massa molar do componente *i* no diesel, ρ_o e MM_o representam a massa específica e a massa molar do diesel, respectivamente. Rearranjando a Eq. 8 podemos aproximar $K_{o/w}$:

$$K_{o/w} = [C_{o,i} / (X_{o,i} S_{w,i})] \quad (\text{Eq. 13})$$

Em se tratando de misturas que compreendem uma gama de componentes cada qual com a sua fração molar contribuinte ($X_{o,i}$), a razão $C_{o,i}/X_{o,i}$ pode ser substituída pelo volume molar do diesel ($L \text{ mol}^{-1}$), que calculado/aproximado pela razão entre MM_o e ρ_o possibilita a partir da Eq. 13, em base log, obter a seguinte relação entre $K_{o/w}$ e S_w , dependente do volume molar do óleo diesel (LEE *et al.*, 1992):

$$\log K_{o/w} = -\log S_{w,i} - \log(MM_o/\rho_o) \quad (\text{Eq. 14})$$

Por convenção, nota-se que a variável $S_{w,i}$ nas equações 11, 13 e 14 corresponde a solubilidade aquosa do componente i no seu estado puro. No caso dos HPAs, $S_{w,i}$ não se ajusta frente ao equilíbrio diesel:água conforme descrito anteriormente. Dessa forma, prioriza-se o cálculo de $S_{w,i-sub}$ o qual deve substituir S_w .

Para tal, $S_{w,i-sub}$ (mg L^{-1}) é dependente das interações moleculares do componente i no seu estado líquido puro, podendo ser derivado a partir de $S_{w,i}$ baseado na razão de fugacidade do sólido puro (f_w) pela do líquido subresfriado (f_{w-sub}), (LIU *et al.*, 2012):

$$S_{w,i-sub} = [S_w/(f_w/f_{w-sub})]_i \quad (\text{Eq. 15})$$

Menciona-se que a razão f_w/f_{w-sub} é uma função do estado do soluto em temperaturas fixas, podendo, dessa forma, ser avaliado a partir de suas propriedades termodinâmicas (LIU *et al.*, 2012). No caso dos dados individuais de fugacidade (F) dos componentes da fase líquida orgânica serem disponíveis, o quociente S_w/F pode ser empregado no cálculo de S_{w-sub} (MA *et al.*, 2010). Ainda, conforme referenciado por Kaipper (2003), a S_{w-sub} pode ser obtida pela seguinte relação:

$$\log S_{w,i-sub} = \log S_{w,i} + 0,01(P_f - T) \quad (\text{Eq. 16})$$

Dados experimentais também podem ser obtidos a partir do comportamento de S_{w-sub} para diferentes frações molares de HPA's e da extrapolação dos valores de C_w obtidos para a fração molar igual a unidade ($X=1$), (LIU *et al.*, 2012).

Considerando S_{w-sub} e que os COH's não são facilmente particionados para a fase aquosa, havendo ainda a presença de compostos que se comportam como sólidos (forma cristalina, como os HPA's) nas condições ambientais (ex.: $T=20-25^\circ\text{C}$)

e no seu estado puro, os estudos envolvendo fases orgânicas líquidas destacam a correção dos valores de S_w para S_{w-sub} . Isso possibilita melhor avaliar o desempenho de modelos aplicados na predição e no comportamento do *NAPL* na dissolução de seus componentes em água, permitindo obter reprodutibilidade a cerca dos desvios experimentais frente condições de idealidade destacando a Lei de Raoult (LEE *et al.*, 1992.; SCHLUEP *et al.*, 2001; KAIPPER, 2003; LIU *et al.*, 2012). É importante ressaltar que embora condições de idealidade geralmente são reportadas na literatura vs. valores experimentais, os valores encontrados no ambiente não reproduzem diretamente S_w , tendo na fração molar do(s) componente(s) de interesse no *NAPL* um dos principais fatores associados à magnitude dos valores de C_w a serem observados em eventos de contaminação de solos e águas subterrâneas (KAIPPER, 2003).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. REAGENTES

Os principais insumos químicos empregados foram: diclorometano (grau HPLC, $\geq 97\%$), hexano (grau HPLC, $\geq 97\%$), acetona (grau P.A., $\geq 99,5\%$) e *n*-pentano (grau P.A., $\geq 99\%$) da marca Vetec Química Fina (Brasil); metanol anidro e etanol anidro ($\geq 99,8\%$; $< 0,2\%$ de água) obtido da Carlo Erba (França); naftaleno ($\geq 97\%$), fenantreno ($\geq 97\%$), pireno ($\geq 99\%$) e antraceno ($\geq 97\%$), adquiridos da Fluka (Sigma-Aldrich®, USA); 9,10-dihidroantraceno ($\geq 97\%$) da Sigma-Aldrich (USA); ésteres etílicos dos ácidos palmítico (palmitato de etila, PE), esteárico (estearato de etila, EE), oleico (oleato de etila, OE) e linoleico (linoleato de etila, LE) a partir da Sigma-Aldrich com pureza superior a 99%; hidróxido de potássio ($\geq 97\%$, Vetec); glicerina ($\geq 99,5\%$, Dinâmica); sulfato de sódio anidro (99%) e Extran® MA 02 neutro, ambos da Merck (França); óleo de soja refinado comercial marca Leve (IMCOPA, Paraná, Brasil). A água utilizada foi destilada e deionizada (leito de resina mista, $< 4 \mu\text{S cm}^{-1}$) purificada em sistema da Vexer, sem qualquer prévio tamponamento do meio.

3.2. DESCONTAMINAÇÃO DE VIDRARIAS

O método de descontaminação das vidrarias aplicado é descrito abaixo:

1. Repouso do material em banho de Extran 5% durante 24 h.
2. Enxague sucessivo com água destilada e deionizada (mínimo de 3 vezes).
3. Secagem a temperatura ambiente (20-25 °C).
4. Limpeza com acetona e/ou solução 2% de potassa alcoólica na presença de sonicação (15 min), utilizando um banho ultrasônico (Ultra Cleaner, modelo USC-1400, UNIQUE, 40 kHz).
5. Calcinação dos *vials* (2-40 ml), para remoção de residuais orgânicos.

3.3. CALIBRAÇÃO DE MICROPIPETAS

Pela alta rotatividade diária na utilização das micropipetas no laboratório e considerando a dependência exclusiva dessas durante todo o procedimento

experimental, optou-se pela calibração rotineira para o controle de qualidade sobre os resultados obtidos. Durante os ensaios laboratoriais, as micropipetas foram avaliadas em termos de precisão e exatidão ao pesar água destilada e deionizada em balança analítica ($\pm 0,0001$ g) a temperatura ambiente. Foram utilizadas quatro micropipetas, entre 2-20 μL (A); 20-200 μL (B); 200-1000 μL (C); 1000-5000 μL (D).

Diferentes volumes foram selecionados para análise do valor real de trabalho, possibilitando corrigir os cálculos e tendo o volume como dado de entrada. As verificações ocorreram entre Mar/12 e Nov/12 ($N=6$). Na Tabela 7 constam os dados estatísticos obtidos.

TABELA 7 – Faixa obtida para alguns valores estatísticos relacionados à calibração ($N=6$) das micropipetas empregadas nos experimentos laboratoriais

Estatística	Micropipeta			
	2-20 μL (A)	20-200 μL (B)	100-1000 μL (C)	1000-5000 μL (D)
RSD (%) ^a	0,57 - 15,96	0,15 - 2,56	0,05 - 1,64	0,04 - 0,57
Erro absoluto ($\pm \mu\text{L}$) ^b	-0,54 - 0,03	-1,17 - 0,70	-11,41 - 11,94	-251,45 - 7,83
Erro relativo ($\pm \%$) ^c	-13,50 - 1,67	-4,08 - 0,58	-1,79 - 1,19	-5,03 - 0,39

Nota: ^a $(\sigma/\bar{x}) \cdot 100$, em que σ é o desvio padrão e \bar{x} é o valor médio

^b $(\bar{x} - x_i)$; em que x_i é o valor esperado.

^c $[(\bar{x} - x_i)/x_i] \cdot 100$.

Os dados confirmaram que as micropipetas apresentaram condições satisfatórias de uso. Em geral, os valores de erro relativo (em módulo) foram inferiores a 5%, exceto para a micropipeta A (2-20 μL). Neste caso, a variação no volume de trabalho pode ser bastante representativa no cálculo final ao considerar os pequenos volumes utilizados. Foram obtidos valores de $R^2 > 0,999$ quando confrontados os dados experimentais e teóricos.

3.4. PREPARAÇÃO DO BIODIESEL

A reação química de transesterificação catalisada em meio alcalino foi realizada para as rotas metílica e etílica (Figura 18), sendo o método desenvolvido segundo Froehner, Leithold e Júnior (2007).

O reator consistiu de uma camisa termostática (500 mL), acoplado a um banho termostático (MQBTC99-20, Microquímica) para controle da temperatura e a um agitador magnético (PC-310, Corning) capaz de manter a mistura homogênea durante o período de reação. Para cada 360 g de óleo de soja refinado, previamente aquecido

no reator durante 30 min a 50 °C, adicionou-se a solução de potassa alcoólica previamente preparada a partir da dissolução de 128,6 mM de hidróxido de potássio (2% m m⁻¹ a partir da massa de óleo) em 100 mL de metanol ou 150 mL de etanol (estequiometria TAGs:álcool fixada em 1:6) a temperatura ambiente. A duração da reação foi de 150 min (50 °C), possibilitando atingir um rendimento satisfatório na esterificação dos TAG's. O reator foi devidamente coberto para evitar perdas do álcool por evaporação.

Após o término, a mistura reacional contendo a fase de ésteres (F1) e a fase de glicerina (F2), foi transferida para uma proveta de 500 mL iniciando o processo de separação. No caso da rota metílica, essa ocorreu rapidamente possibilitando o procedimento de purificação. Para a rota etílica, uma maior dispersão da glicerina na fração de ésteres foi observada o que dificultou o processo de separação. Neste caso, seguindo a proporção do protocolo experimental, foram adicionados 120 mL de glicerina para acelerar a separação das fases, confirmada visualmente até 60 min da sua adição. Para ambas as rotas alcoólicas adotou-se um tempo de 180 min para a completa separação. Retirada a fase contendo os ésteres metílicos ou etílicos (F1) com auxílio de uma pipeta de vidro (25 mL), as amostras foram lavadas na proporção água:biodiesel 1:1 (v v⁻¹), em presença de 1% de ácido acético. Novamente ocorreram duas fases, sendo a inferior constituída pelo material indesejável (remanescentes do catalisador, sais, sabão, traços de álcool e glicerina livre).

A fase contendo os ésteres foi transferida para um balão de fundo redondo (500 mL), acoplado a um evaporador rotativo (R-210, Buchi) com banho ajustado em 85 °C e água do condensador a 3 °C através da recirculação do banho termostático, permitindo a eventual remoção do álcool que não reagiu e não foi removido anteriormente. O biodiesel foi tratado com sulfato de sódio anidro e filtrado para a remoção da água.

Finalmente, as amostras estavam prontas para caracterização e utilização nos experimentos de bancada. Foram denominadas de BM (biodiesel metílico) e BE (biodiesel etílico) e mantidas acondicionadas a temperatura controlada (20±2 °C).

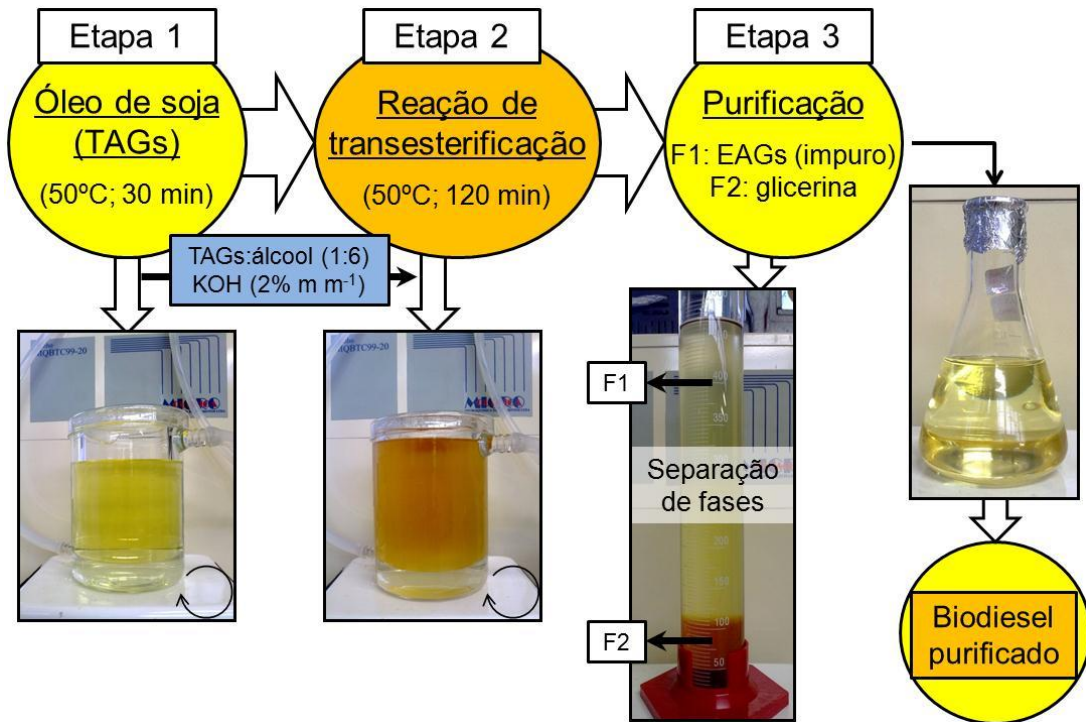


FIGURA 18 – Esquema representativo das etapas envolvidas no preparo do biodiesel.

3.4.1. Caracterização das amostras

As amostras de biodiesel foram caracterizadas pelo grupo técnico do Laboratório de Análises de Combustíveis Automotivos (LACAUTets), Centro Politécnico, Usinas Piloto de Tecnologia Química, UFPR, Curitiba.

Os parâmetros e os respectivos métodos de determinação avaliados nas amostras de biodiesel (Resolução ANP N°. 7/2008) constam na Tabela 8. O pH das amostras foi determinado com um pHmetro de bancada (QX 1500 *Plus*, qualxtron).

No Laboratório de Biocatálise e Química de Fitomassa (Departamento de Química da UFPR) foi realizada a caracterização da amostra de biodiesel metílico (BM) quanto ao teor de EMAG's, aplicando cromatografia de fase gasosa acoplada a um espectrômetro de massas.

Pelos resultados obtidos para o percentual de contribuição de cada éster na amostra de BM foi possível determinar a massa molar média (MM_m) dos EMAG's:

$$MM_m = [\sum(TP_i * MM_i)] / \sum TP_i \quad (\text{Eq. 17})$$

Em que TP_i corresponde ao teor (%) do éster i no BM e MM_i é a massa molar do éster metílico i segundo a Tabela 2. No caso da MM_m dos EEAG's (BE), o valor foi obtido somando-se a MM_m dos EMAGs com a diferença calculada entre as massas molares do radical etóxido (45 g mol^{-1}) e do radical metóxido (31 g mol^{-1}). Isso significa substituir na estrutura dos EEAG's (BE) o radical correspondente ao álcool empregado na reação de transesterificação, no caso o etanol (SILVA, 2005), uma vez que a cadeia carbônica dos AG's permanece inalterada. Ainda, obteve-se a massa molar do óleo vegetal ($MM_{\text{óleo}}$) utilizado na síntese do biodiesel pela equação:

$$MM_{\text{óleo}} = (3 * MM_m) - 4 \quad (\text{Eq. 18})$$

TABELA 8 – Parâmetros avaliados para especificação das amostras de biodiesel preparadas através de transesterificação química e catálise básica.

Parâmetro	Símbolo	Unidade	Método
Massa específica a 20°C	ρ	kg m^{-3}	ASTM D 4052
Viscosidade cinemática a 40°C	ν	$\text{mm}^2 \text{ s}^{-1}$	ASTM D 445
Índice de acidez	-	$\text{mg}_{\text{KOH}} \text{ g}^{-1}$	ABNT NBR 14448
Teor de éster	-	% massa	EN 14103
Teor de água	-	mg kg^{-1}	ASTM D 6304
Teor de metanol	-	% massa	EN 14110
Número de cetano derivado	NDC	-	ASTM D 6890
Ponto de fulgor	PF	°C	ASTM D 93

3.5. DIESEL

Uma amostra comercial de diesel (D1) foi obtida a partir de um posto de revenda de combustíveis localizado na BR-277 (próximo ao município de Campo Largo) no dia 22/03/2012. Em laboratório, a amostra foi caracterizada para alguns parâmetros físico-químicos (Tabela 9) segundo Resolução ANP N°. 42/2009, sendo as análises realizadas pelo grupo técnico do LACAUTets. Uma segunda amostra de diesel (D2) designada S20 foi adquirida juntamente ao próprio LACAUTets no dia 09/08/2012. Ambas foram mantidas refrigeradas ($4 \text{ }^\circ\text{C}$) durante o período de estudo.

A caracterização da amostra D2 foi realizada similarmente à amostra D1. Na Figura 19 é mostrado o aspecto visual das amostras D1 e D2. Essas foram utilizadas sem qualquer purificação prévia à realização dos experimentos.

TABELA 9 – Parâmetros avaliados para especificação das amostras de diesel D1 e D2.

Parâmetro	Símbolo	Unidade	Método
Massa específica a 20 °C	ρ	kg m ⁻³	ASTM D 4052
Viscosidade cinemática a 40 °C	ν	mm ² s ⁻¹	ASTM D 445
Teor de biodiesel	Bxx	%	EN 14078
Enxofre total	-	mg kg ⁻¹	ASTM D 4294
Água e sedimentos	-	% volume	ASTM D 1796
Número de cetano derivado	NDC	-	ASTM D 6890
Ponto de fulgor	PF	°C	ASTM D 56



FIGURA 19 – Aspecto visual das amostras de diesel D1 (esquerda) e D2 (direita).

A composição dos HPA's foi avaliada nas amostras D1 e D2. Três diferentes sub-amostras, em duplicata, foram preparadas em *vials* de 1,5 mL: (i) 1,5 ml de amostra ($f_d=0$); (ii) 50 μ L de amostra diluído em hexano ($f_d=30$); (iii) 5 μ L de amostra diluído em hexano ($f_d=300$). A quantificação foi realizada por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massa utilizando a padronização externa como método de calibração. A curva analítica foi preparada pela diluição de um padrão 200 mg L⁻¹ contendo um mix dos 16 HPA's (US EPA) em hexano, obtendo valores na faixa de 50 a 1000 μ g L⁻¹. Foi empregado um cromatógrafo gasoso modelo 450 GC acoplado com um espectrometro de massas modelo 320 MS (Varian). A coluna cromatográfica foi a Factor Four VF-5ms (5% fenil e 95% dimetilpolissiloxano; Varian, Walnut Creek, USA) de dimensões 30m x 0,25mm x 0,25 μ m. A temperatura do injetor foi mantida a 280 °C, tendo como gás de arraste o hélio a um fluxo constante de 1,2 mL min⁻¹. O volume de injeção foi de 1 μ L. O seguinte gradiente de temperatura foi adotado: 40 °C por 1 min, aumentado para 120 °C (30 °C min⁻¹), permanecendo por 1 min e aumentado novamente até 280 °C (10 °C min⁻¹), permanecendo por 15,2 min. O tempo total da corrida foi de 35 min. As análises foram realizadas no LACAUTets.

3.6. FORMAÇÃO DE AGREGADOS DE ÉSTERES ETÍLICOS

3.6.1. Determinação da concentração de agregação crítica (CAC)

Soluções estoque individuais (750 ou 1000 μM) dos ésteres etílicos palmitato de etila (PE), estearato de etila (EE), oleato de etila (OE) e linoleato de etila (LE) foram preparadas em *n*-pentano para um volume final de 40 mL. Os cálculos da massa ou volume necessário de cada éster foram realizados a partir das respectivas massas específicas e massas molares (Tabela 2). Soluções intermediárias (7,5 ou 100 μM) foram preparadas a partir da diluição das soluções estoque, aferindo-se o volume para 10 mL com *n*-pentano. As soluções foram mantidas acondicionadas em refrigerador a uma temperatura aproximada de 4 °C e tempo máximo de 30 dias para uso. No caso das amostras de biodiesel (BM ou BE), propriamente dito, soluções estoque $2,5 \times 10^{-2}$ e 0,05 % (v v⁻¹) em *n*-pentano foram empregadas.

3.6.1.1. Dispersão de luz (τ)

As medições de turbidez para diferentes concentrações dos ésteres PE, EE, OE e LE em água, na faixa entre 10^{-8} - 10^{-4} M, foram realizadas em um turbidímetro de bancada modelo 2100P (Hach®), sempre em duplicatas. Primeiramente, volumes específicos das soluções estoque de cada éster (100 ou 1000 μM , em *n*-pentano), avaliados separadamente, foram transferidos para *vials* de 20 mL. Na sequência, o solvente foi evaporado sob moderado fluxo de nitrogênio. Em seguida, procedeu-se com a adição de água destilada e deionizada perfazendo o volume final (15 ou 20 mL) adotado no cálculo da concentração dos ésteres. Os *vials* foram devidamente fechados, agitados manualmente por inversão, imersos em um bécker contendo etanol e sonicados em banho de ultrassom durante 30 min.

Para as amostras de BM e BE, a partir da solução estoque foram preparadas concentrações de biodiesel na faixa de 10^{-5} - $10^{-2}\%$ (v v⁻¹) similarmente ao procedimento estabelecido para os ésteres etílicos.

Como etapa final, as amostras (PE, EE, OE, LE, BM e BE) foram analisadas quanto ao sinal de turbidez (NTU), transferindo-se as soluções para as células de amostras (previamente limpas e preparadas com uma fina camada de óleo de

silicone), mais especificamente frascos de vidro borossilicato (60x15 mm) com tampa rosqueável e volume de amostra para análise de 15 ml.

Amostras contendo somente água destilada e deionizada (τ_0) foram avaliadas alternadamente as amostras para controle e posterior uso na análise dos dados.

A calibração do equipamento foi realizado sempre quando utilizado, pela leitura de soluções do polímero formazina (0,1; 20; 100; 800 NTU) disponibilizadas pelo próprio fabricante (Hach®). Todos os experimentos foram realizados a temperatura ambiente controlada (20 ± 2 °C).

3.6.1.2. Índice de polaridade do pireno

Nas análises de fluorescência foi empregado o espectrofluorímetro modelo F-4500 (Hitachi, Japão) alocado no departamento de Química da UFPR. As medidas foram realizadas no modo emissão, fixando o comprimento de onda de excitação em 343 nm e a faixa de emissão entre 350-450 nm. A velocidade de varredura foi 240 nm min^{-1} e tensão de 900 V. A largura das fendas de excitação e emissão foram 10 e 2,5 nm, respectivamente, e o intervalo de dados computados a cada $0,2 \text{ nm s}^{-1}$. A leitura foi realizada em cubeta de quartzo multifacetada com caminho óptico de 1 cm, e os experimentos realizados sempre em duplicatas.

A partir das soluções estoque e individuais de cada éster (7,5 ou 750 μM , em *n*-pentano), concentrações entre 10^{-8} - 10^{-5} M foram obtidas para um volume final de 4 mL de solução aquosa saturada de pireno ($SSat_{PY}$). Essa foi obtida pela adição de 100 mg de pireno em 500 ml de água destilada e deionizada, seguido de agitação (500 rpm) e saturação da fase aquosa com o soluto de interesse durante um período de 24 h. Por fim, a solução foi filtrada e acondicionada a uma temperatura de 20 ± 2 °C em frasco âmbar, previamente descontaminado, de modo a prevenir perdas por fotólise do pireno. O tempo máximo para uso foi de 30 dias.

Brevemente, o procedimento consistiu da adição de volumes específicos das soluções estoque dos ésteres em *vials* de 4 mL, o *n*-pentano foi evaporado logo em seguida sob moderado fluxo de nitrogênio e 4 mL de $SSat_{PY}$ foram dispensados nos *vials*. Esses foram devidamente fechados, agitados manualmente por inversão e como o procedimento descrito no *item 3.6.1.1*, imersos em um bécker contendo etanol e sonicados em banho de ultrassom durante 30 min. Como última etapa, procedeu-se com as análises de fluorescência, sempre realizadas logo ao término do preparo das

amostras. Assim como no método de dispersão de luz, todos os experimentos foram realizados a temperatura ambiente controlada (20 ± 2 °C).

Para as amostras de biodiesel (BM, BE), diferentes concentrações entre 10^{-5} - 10^{-2} % ($v v^{-1}$) foram preparadas em $SSat_{PrY}$ a partir das soluções estoque $2,5 \times 10^{-2}$ e 0,05% ($v v^{-1}$), orientando-se pelo procedimento descrito acima para os EEAG's.

De modo a determinar a representatividade do método idealizado nesta etapa experimental quanto ao preparo das soluções de trabalho (EEAG's e amostras de biodiesel), o mesmo foi avaliado para um agente tensoativo comercial, representativo de dados de literatura consolidados quanto a sua atividade surfactante. A substância empregada, um surfactante não iônico, foi o monooleato de sorbitan etoxilado 20, de nome comercial Tween 80. A partir de padrão estoque (550 ou 55 μ M, em metanol), soluções de Tween 80 na faixa de concentração entre 10^{-7} - 10^{-4} M, em presença de $SSat_{PrY}$, foram empregadas. O procedimento de preparo consistiu da evaporação do solvente orgânico (nesse caso o metanol) nos *vials* de 4 mL, transferência de 4 mL $SSat_{PrY}$, agitação manual, sonicação das soluções na presença de pireno e, por fim, análise de fluorescência.

Além das medições de emissão de fluorescência para as soluções de trabalho contendo $SSat_{PrY}$, os experimentos a partir das amostras de biodiesel também foram avaliados somente na presença de água destilada e deionizada, a fim de verificar a influência da turbidez nos sinais obtidos no espectrofluorímetro. No caso dos EEAG's, o mesmo não foi realizado, uma vez que a faixa de concentração estudada pode ser considerada como opticamente límpida (MOGELSON; PIEPER; LANGE, 1984).

3.7. SOLUBILIDADE AQUOSA DE HPA's

3.7.1. Sistema de equilíbrio HPA:água

Esta etapa experimental foi realizada de modo a prover a solubilidade máxima dos HPA's (S_w) na fase aquosa (f_{aq}). Ou seja, a concentração de equilíbrio em sistemas HPA:água na proporção 1:400 ($m v^{-1}$).

Em *vials* com capacidade de 40 mL pesou-se, separadamente, 50 mg dos HPA's naftaleno, fenantreno, antraceno e pireno (substância pura, estado sólido), seguido da adição de 20 mL de água destilada e deionizada. Nessas condições, assumindo que toda a massa do HPA solubiliza na água, a concentração máxima seria de 2500 mg

L^{-1} , que segundo os dados de literatura listados na Tabela 4 excede entre 2 a 5 ordens de grandeza o valor de S_w dos HPA's em estudo.

Na sequência, os *vials* foram devidamente fechados com as respectivas tampas de rosca, compostas internamente por um septo de PTFE/silicone e dispostos em um agitador magnético multi-pontos, alocado em uma incubadora com temperatura estabilizada.

Ambas, agitação (200 rpm) e temperatura, T , (20 ± 2 °C), foram mantidas constantes durante todo o experimento. O tempo de equilíbrio, t_{eq} , foi fixado em 7 dias e as análises realizadas em duplicata. Posteriormente, as amostras foram filtradas e acondicionadas em *vials* de 40 mL descontaminados (retenção do excesso de HPA), seguido de extração líquido-líquido (ELL) em sistema água:diclorometano (*item 3.8.*) modificada, estando finalmente prontas para quantificação cromatográfica dos HPA's de interesse conforme descrito no *item 3.5.*

3.7.2. Sistema de equilíbrio HPA:OE:água

Primeiramente, concentrações entre 10^{-8} - 10^{-2} M do éster etílico oleato de etila (OE) foram preparadas em água. O procedimento consistiu da transferência de volumes específicos de soluções estoque de OE (10^3 ou 10^5 μ M, em *n*-pentano) para os *vials* de 40 mL. Em seguida, o *n*-pentano foi evaporado sob moderado fluxo de nitrogênio, sendo então substituído pela adição de 20 mL de água destilada e deionizada. Os sistemas água:OE foram agitados manualmente e sonicados em banho ultrassônico por um período de 30 min, similar ao procedimento adotado na determinação da CMC (*item 3.6.1.*). Posteriormente a esta etapa de preparo, reproduzindo as condições experimentais estabelecidas no *item 3.7.1.* (200 rpm, T 20 ± 2 °C, t_{eq} 7 dias, filtração, ELL), experimentos contendo 50 mg dos HPA's naftaleno, fenantreno, antraceno e pireno foram realizados, mantendo-se a proporção HPA:água de 1:400 ($m v^{-1}$). O sistema HPA:OE-água foi realizado separadamente para cada HPA, assim como no sistema HPA:água.

3.7.3. Sistema de equilíbrio HPA:biodiesel:água

Nesta etapa, as amostras BM ou BE foram empregadas no estudo do comportamento de sistemas HPA:biodiesel:água. Em *vials* de 40 mL, frações

volumétricas (f) de BM ou BE entre 10^{-4} - 10^{-1} (0,05-10%) foram preparadas em água e em duplicatas (Figura 20). Na sequência, diferentemente dos sistemas HPA:água e HPA:OE:água, uma mistura contendo 50 mg de cada HPA estudado foi adicionada. As condições experimentais resumem-se àquelas descritas no *item 3.7.1*. Após o t_{eq} (neste caso 24 h), as amostras foram filtradas e transferidas para *vials* de 40 mL descontaminados. Notou-se que juntamente ao excesso de HPA sólido, o papel filtro reteve a fase lipofílica (biodiesel). Entretanto, na fase aquosa foi verificada uma fase residual. As amostras filtradas permaneceram então em repouso (1 h), os *vials* orientados com a tampa para baixo, permitindo a separação do biodiesel da fase aquosa, sendo a segunda removida com auxílio de uma seringa de vidro (10 mL) e novamente armazenada em um novo frasco. Posteriormente, deu-se continuidade ao experimento com a ELL e quantificação dos HPA's.

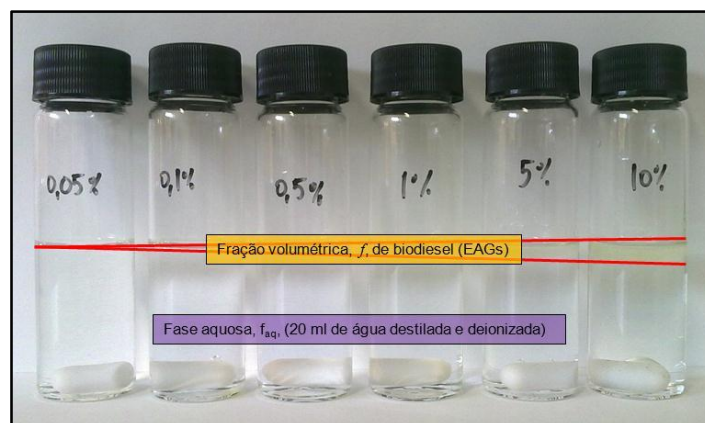


FIGURA 20 – Exemplo dos experimentos realizados em sistemas de equilíbrio de fases, nesse caso HPA:biodiesel:água.

3.7.4. Sistema de equilíbrio diesel D1:água

Neste experimento, o equilíbrio de partição entre as fase aquosa (f_{aq}) e orgânica (f_{org}) foi estudado em sistemas de equilíbrio de fases.

Para avaliar a concentração dos HPA's particionados do diesel para a f_{aq} , foram preparados sistemas de equilíbrio diesel:água, em triplicata, na proporção de 1:20 ($v v^{-1}$). O preparo consistiu primeiramente da adição do volume correspondente de água destilada e deionizada (f_{aq}), em *vials* de 40 ml, seguido da adição da fração de diesel (f_{org}) realizada lentamente ao longo da parede dos frascos de modo a evitar ao máximo a presença de distúrbios entre ambas as fases. Logo, após esta etapa, os *vials* foram

devidamente fechados e preparados na mesa agitadora para as condições experimentais de t_{eq} , T e velocidade de agitação especificadas no *item 3.7.1*. Após o término, as amostras foram mantidas em repouso nos próprios *vials*, porém com a parte da tampa orientada para baixo, permitindo, uma completa sedimentação e um equilíbrio de separação entre f_{aq} e f_{org} , de duração igual a 1h. Na sequência, com auxílio de uma seringa de vidro (10 mL) o septo foi furado e a f_{aq} foi lentamente retirada próximo do volume total, sendo observado a presença de ruptura entre um pequeno residual de f_{aq} ainda presente com a f_{org} . Por fim, as amostras de f_{aq} foram armazenadas para posterior extração dos HPA's pelo método ELL.

3.7.5. Sistema de equilíbrio diesel D2:água

O desenvolvimento desta etapa somente foi possível devido à composição do diesel D2 (obtido pelo LACAUTets) ser caracterizada como B0 (isento de biodiesel). Assim, experimentos em sistemas de equilíbrio de fases entre f_{aq} e f_{org} foram realizados para avaliar o particionamento dos HPA's na f_{aq} , considerando os sistemas na presença somente de diesel:água, na proporção de 1:20 (v v⁻¹), ora descrito anteriormente (*item 3.7.4.*) e, principalmente, pela adição de diferentes frações volumétricas (f) de biodiesel etílico (BE) na fase orgânica (diesel), variando f entre 0,005-1. Nestes experimentos contendo água e misturas diesel/biodiesel, o volume total de f_{org} (1 ml) foi corrigido pela fração volumétrica correspondente de biodiesel até a sua completa substituição (B100, $f=1$). Por fim, os *vials* foram devidamente fechados e preparados na mesa agitadora para as condições experimentais de t_{eq} , T e velocidade de agitação especificadas no *item 3.7.1*. Após o término, a remoção da fase aquosa para análise dos HPAs procedeu como descrito no *item 3.7.4*. As análises foram conduzidas em duplicatas.

A Figura 21 ilustra o sistema empregado ao longo de todos os experimentos envolvendo sistemas de equilíbrio de fases (HPA:água, HPA:OE:água, HPA:biodiesel:água, diesel D1:água e diesel D2:água). Nesse caso, especificamente, é exemplificado o procedimento envolvendo a partição diesel:água para ambas as amostras D1 e D2.

O sistema constituiu-se de um método de agitação lenta (do inglês *slow-stirring method*) estabelecido para todo o tempo de equilíbrio (t_{eq}), possibilitando avaliar os

processos de troca dinâmica e a concentração de equilíbrio dos compostos avaliados na fase aquosa (SCHLUEP *et al.*, 2001).



FIGURA 21 – Sistema empregado para os experimentos envolvendo sistemas de equilíbrio de fases (método de agitação lenta).

3.8. EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO (ELL) DOS HPA's

O método empregado no procedimento de ELL foi o EPA 3510B, adaptado com algumas modificações na redução do volume de solvente orgânico extrator e condições sobre a técnica de extração. Este teve por objetivo remover/isolar os HPA's presentes na f_{aq} extraída dos experimentos realizados (*itens 3.7.1. a 3.7.5*) por meio do particionamento líquido-líquido envolvendo um solvente orgânico fortemente apolar, neste caso o diclorometano (DCM), e as amostras em fase aquosa.

A partir de sucessivas extrações adicionando repetidas alíquotas de DCM a um volume determinado de amostra aquosa, o princípio do método sugere a partição/transferência dos compostos orgânicos de interesse (HPA's) para a fase orgânica (f_{org}), devido ambos (soluto e solvente orgânico) apresentarem semelhanças na sua polaridade (compostos apolares).

As amostras aquosas após os experimentos de fases de equilíbrio foram acondicionadas em *vials* de 40 mL, descontaminados. Em geral, todas as amostras representaram 20 mL de f_{aq} . Neste caso, foram realizadas 3 extrações sucessivas com adição de 8 mL de DCM cada, agitadas manualmente durante 3 min, e posteriormente mantidas em repouso por 10 min para separação das fases. Nesta última etapa, os *vials* foram mantidos invertidos com auxílio de um suporte universal para

deslocamento da f_{org} (mais densa) para a porção próxima a tampa. Decorrido o período de repouso, com auxílio de uma seringa de vidro (10 ml), a porção correspondente a f_{org} foi removida furando-se o septo de PTFE/silicone.

Dessa forma, o volume acumulado correspondente a f_{org} foi de 24 mL. A partir desse, 50% foi transferido para *vials* de 12 mL, sendo mantidos refrigerados para posterior preparo da amostra, descrito na sequência.

Para os experimentos descritos nos *itens* 3.7.2. e 3.7.3, as amostras foram previamente diluídas em hexano para um volume final de 1 ml ($f_d=10-200$) em *vials* de 2 ml. Por outro lado, nos experimentos dos *itens* 3.7.4 e 3.7.5, procedeu-se com a concentração de 5 ml de amostra para um volume final de 0,2 ml ($f_c=25$). Nesse caso, o solvente (DCM) foi evaporado sob moderado fluxo de nitrogênio, seguido da redissolução da amostra pela adição de 0,2 ml de hexano, sonicação por 1 min e transferência do volume final para *vials* de 2 ml. Todas as amostras foram mantidas armazenadas em refrigerador até o momento da quantificação cromatográfica.

As análises foram realizadas por cromatografia em fase gasosa com detector por ionização de chama (CG-DIC) no Departamento de Química e Biologia da UTFPR *Campus* Curitiba. As condições cromatográficas são descritas no *item* 3.8.2, assim como o método de cálculo da concentração dos HPAs na fase aquosa.

3.8.1. Controle de qualidade para ELL (testes de recuperação)

Ensaio controlado, ou seja, na presença de concentrações teóricas conhecidas dos HPA's naftaleno (15 mg L^{-1}), fenantreno ($0,9 \text{ mg L}^{-1}$) e 9,10-dihidroantraceno ($0,7 \text{ mg L}^{-1}$) em fase aquosa, foram realizados para avaliar a reprodutibilidade do método ELL.

O procedimento consistiu na pesagem de uma quantidade exata ($\pm 0,01 \text{ mg}$) do HPA correspondente em *vials* de 40 mL. Em seguida, os *vials* foram lavados com água até completa remoção dos HPAs, diluindo as soluções para um volume final de 500 ml em frascos âmbar. Essas foram mantidas sob agitação (500 rpm) durante um período de 24 h ($20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$). Posteriormente, alíquotas de 20 mL (triplicatas) de cada solução aquosa de HPA foram submetidas à ELL (*item* 3.8.). Neste caso, as amostras foram analisadas diretamente sem diluição prévia (f_d) para o fenantreno e 9,10-dihidroantraceno e diluição para o naftaleno ($f_d=10$).

O percentual de recuperação (E) a partir dos resultados obtidos foi calculado como segue:

$$E = (C_{\text{obs}} / C_t) * 100 \quad (\text{Eq. 19})$$

Em que C_{obs} representa o valor obtido após ELL e quantificação cromatográfica e C_t o valor teórico, correspondente à concentração preparada de cada HPA. Note que o valor E refere-se à exatidão do método (ELL). A partir de E e da variação observada (σ) entre as triplicatas realizadas, foram obtidos os limites inferiores e superiores da exatidão da ELL no intervalo de $E - 2\sigma$ e $E + 2\sigma$ (KAIPPER, 2003)

3.8.2. Condições cromatográficas para análise dos HPA's.

Para as amostras quantificadas por cromatografia gasosa com detector por ionização de chama (CG-DIC), foi empregado um cromatógrafo gasoso modelo 450 GC com detector FID (Varian). Para separação dos compostos foi utilizada uma coluna capilar HP5MS (5% fenil e 95% dimetilpolissiloxano; 50 m x 0,25 mm x 0,25 μm). A temperatura do injetor foi de 280 °C, sendo utilizado o modo de injeção *splitless*. O gás de arraste foi o hidrogênio com fluxo constante de 1 mL min⁻¹ e volume de injeção de 1 μL . O seguinte gradiente de temperatura foi utilizado: 60 °C por 1 min, aumentado para 120 (20 °C min⁻¹), permanecendo por 1 min, seguido de aumento até 200 °C (10 °C min⁻¹), sem isoterma, e aumento até 330 °C (5 °C min⁻¹) permanecendo por 11 min. O tempo total da corrida foi de 44 min. A temperatura no detector (DIC) foi de 330 °C.

A padronização externa foi adotada como método de calibração. A curva analítica foi preparada a partir da diluição de um padrão 2000 mg L⁻¹ (QTM PAH Mix,) contendo um mix de 15 HPA's (Supelco, Sigma-Aldrich, USA) em hexano, de modo a obter valores na faixa de 800 a 8000 $\mu\text{g L}^{-1}$. Na Tabela 10 constam os respectivos tempos de retenção (t_r) os valores do intercepto, inclinação da curva, R^2 e limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) dos HPA's quantificados por CG-DIC. O LD e LQ foram calculados a partir do quociente do desvio padrão do intercepto pela inclinação da reta, multiplicados por 3 (LD) e 10 (LQ), (ANVISA, 2003). No caso do 9,10-DhA, a calibração foi realizada a partir do padrão individual do HPA. A curva analítica foi

preparada na faixa entre 50 a 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$, em hexano, partindo-se de um padrão estoque de 5 mg L^{-1} .

TABELA 10 – Representação dos valores obtidos a partir da regressão linear da curva analítica para cada HPA avaliado, LD e LQ, empregando CG-DIC.

HPA	N	t_r (min)	Regressão linear ($y = a \cdot x + b$)			LD ^a (mg L^{-1})	LQ ^b (mg L^{-1})
			Intercepto (b)	Inclinação da reta (a)	R ²		
Naftaleno	5	9,48	-7,66	133,18	0,991	0,02	0,08
Acenaftaleno	5	12,97	-27,71	114,66	0,980	0,03	0,09
Acenafteno	5	13,30	-19,67	70,31	0,977	0,04	0,1
Fluoreno	5	14,70	-8,83	103,68	0,966	0,03	0,10
9,10-dihidroantraceno	6	15,90	0,14	116,35	0,992	0,03	0,09
Fenantreno	5	17,56	-26,48	94,17	0,982	0,03	0,11
Antraceno	5	17,73	-10,90	93,15	0,985	0,03	0,11
Fluoranteno	5	21,89	-18,30	75,57	0,992	0,04	0,13
Pireno	5	22,78	-16,04	72,72	0,993	0,04	0,14
Benzo[a]antraceno	5	27,97	-21,91	34,44	0,993	0,09	0,29
Criseno	5	28,12	-7,12	37,74	0,990	0,08	0,26
Benzo[b]fluoranteno	5	32,57	-20,11	30,66	0,987	0,10	0,33
Benzo[a]pireno	5	33,90	-18,38	23,22	0,986	0,13	0,43
Indeno[1,2,3-cd]pireno	3	39,60	-13,22	11,78	0,975	0,25	0,85
Benzo[g,h,i]perileno	3	39,87	-15,45	15,05	0,991	0,20	0,66
Dibenzo[a,h]antraceno	3	41,18	-19,63	13,77	0,994	0,22	0,73

Nota: ^a $3\sigma/a$. ^b $10\sigma/a$. σ e a são, respectivamente, o desvio padrão do intercepto e a inclinação da reta, obtidos pelo ajuste linear aos dados da curva analítica de cada HPA.

3.9. CÁLCULO DOS HPAs NA FASE AQUOSA

O procedimento de cálculo para quantificação dos HPA's na fase aquosa, empregando as técnicas cromatográficas (GC-MS e GC-FID) é mostrado abaixo:

$$C_{\text{Corr}} = C_E \cdot f_d \text{ (ou } f_c) \rightarrow \mu\text{g L}^{-1} \quad (\text{I})$$

$$m\text{-}C_{\text{DCM}} (\mu\text{g}) = m\text{-}C_{\text{Corr}} (\mu\text{g}) \cdot V_{\text{DCM}} (\text{mL}) / 1000 (\text{mL}) \quad (\text{II})$$

$$C\text{-}f_{\text{aq}} (\mu\text{g ml}^{-1}) = m\text{-}C_{\text{DCM}} (\mu\text{g}) / V\text{-}f_{\text{aq}} (\text{mL}) \quad (\text{III})$$

Pela concentração quantificada (C_E) e pela correção a partir de f_d ou f_c , obteve-se a concentração corrigida (C_{Corr}). Na etapa II, a massa de HPA referente à sua concentração ($m\text{-}C_{\text{DCM}}$) no volume de solvente extrator (V_{DCM}) foi calculada. Por fim (etapa III), o quociente entre o valor obtido para $m\text{-}C_{\text{DCM}}$ e o volume da fase aquosa ($V\text{-}f_{\text{aq}}$) é obtido, resultando na concentração de HPA na fase aquosa ($C\text{-}f_{\text{aq}}$).

3.10. TRATAMENTO DOS DADOS

A análise e interpretação dos dados obtidos foram realizadas a partir da interface de funções disponíveis em planilha Excel 2010 (Microsoft Office®) e do programa de análise de dados e interface gráfica Origin® 8.5 (OriginLab). O emprego de regressão linear simples, quando requisitado, foi avaliado como segue:

$$y = \beta_0 + \beta_1 * x + \varepsilon \quad (\text{Eq. 20})$$

$$\chi^2 = \sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2, (i: 1 \rightarrow n) \quad (\text{Eq. 21})$$

Em que β_0 e β_1 são coeficientes obtidos a partir do ajuste linear, ε é o erro randômico (Eq. 20). Foi adotado o método dos mínimos quadrados, de modo a minimizar a soma dos quadrados dos resíduos, $\chi^2 = (\sum_i e_i^2)$, representado na Eq. 21, na qual e_i^2 é substituído por $(y_i - \hat{y}_i)$, sendo $\hat{y}_i = y$ (Eq. 20) e y_i o valor observado.

Adicionalmente, os dados avaliados a partir de replicatas tiveram o erro (ω_i) utilizado como peso na ponderação dos dados, o qual foi obtido a partir do desvio padrão (σ), representando, dessa forma, a dispersão entre as réplicas:

$$\chi^2 = \sum_i [\omega_i (y_i - \hat{y}_i)^2], (i: 1 \rightarrow n) \quad (\text{Eq. 22})$$

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE DIESEL E BIODIESEL

Na Tabela 11 constam os resultados obtidos para as especificações avaliadas nas amostras de diesel D1 e D2 e amostras de biodiesel BM1, BE1 e BE2.

Os valores de massa específica (ρ) e viscosidade cinemática (ν) obtidos para as amostras de diesel e biodiesel atenderam aos limites especificados. Nas amostras de diesel, os valores de ρ e ν corroboraram com a amplitude mostrada na Tabela 3, similar para ρ da amostra BM1.

Lôbo, Ferreira e Cruz (2009) destacam que ρ associa-se diretamente com a estrutura molecular dos constituintes do biodiesel, apresentando maiores valores com o aumento da cadeia carbônica dos respectivos EAG's de sua composição, e também superiores aos obtidos para o diesel. Para as amostras de biodiesel, ρ foi maior na amostra BM1 e bastante similar nas duas amostras sintetizadas via rota etílica. Por outro lado, ν , que também apresentou maiores valores para o biodiesel em relação ao diesel, foi inferior na amostra BM1 em relação a BE1 e BE2, o que, muito provavelmente, decorre do aumento da cadeia carbônica fazendo com que ν seja um pouco maior para os EEAG's (KNOTHE, 2005). Esse autor cita valores de ν para EMAG's e EEAG's a partir do óleo de soja entre 4,0 a 4,3 mm² s⁻¹ (KNOTHE, 2008). Segundo Hoekman *et al.* (2012), os valores médios para ρ e ν no caso dos EMAG's são de 882±7 kg m⁻³ e 4,26±0,39 mm²s⁻¹ (N=59), respectivamente, concordando com os valores da amostra BM1.

É importante mencionar que ν , além de afetar o comportamento de injeção do combustível, é fortemente associada ao comportamento de fases orgânicas na subsuperfície. Dados obtidos experimentalmente indicaram que para valores de ν mais elevados entre amostras de biodiesel a partir de diferentes fontes oleagionas, é observada uma redução no comportamento de biodisponibilidade e na taxa de biodegradação (CORSEUIL *et al.*, 2011).

Analisando demais parâmetros da Tabela 11, observa-se que o índice de acidez, limitado pelo valor máximo de 0,50 mg_{KOH} g⁻¹, foi superior ao limite para a amostra BE1. Conceitualmente, esse parâmetro corresponde a massa de KOH necessária para neutralizar os AG's livres presentes em 1 g de biodiesel. Dessa forma, nota-se

que o valor de $1,03 \text{ mg}_{\text{KOH}} \text{ g}^{-1}$ (BE1) indica que a conversão dos TAGs do óleo de soja a biodiesel foi relativamente desfavorecida, visto que o teor de EEAG's representou 90,5% da massa total. Notou-se que para BE2, o processo de síntese proporcionou uma maior conversão dos TAG's para EEAG's (94,1% em massa) e um menor índice de acidez, inclusive inferior ao da amostra BM1. Esse, por sua vez, com 95,5% de EMAG's na composição final do biodiesel. É importante citar que o teor de éster foi fundamental para a correção dos cálculos de concentrações avaliadas nos experimentos de solubilidade. Analisando a eficiência de separação entre as fases éster e glicerina (Figura 18) no preparo do biodiesel via rota metílica ou etílica, foi obtida uma taxa de conversão média de $92,4 \pm 2,5\%$ em massa de EAG's, a partir da massa inicial do óleo na reação.

O teor de água indicou alta umidade, com valores superiores a 500 mg kg^{-1} , sendo que para BM1 e BE2 os valores estiveram acima de 1000 mg kg^{-1} (ou 0,1%). Entretanto, nota-se que a amostra BE1 foi a que reportou o teor mais reduzido de água ($\sim 0,065\%$), muito embora também apresentou o menor teor de éster.

A presença de água indica a possibilidade de hidrólise (presença de AG's livres) e também a proliferação de microorganismos durante o armazenamento e estocagem do biodiesel, além deste possuir um certo grau de hidrosopicidade (LÔBO; FERREIRA; CRUZ, 2009).

Com a presença de atividade microbiana potencializa-se também a capacidade de biodegradabilidade do biodiesel e misturas diesel/biodiesel (B5, B10 e B20), conforme foi observado em experimentos com espécies de fungos e leveduras capazes de promover o crescimento de biomassa utilizando o diesel e biodiesel como fonte de carbono e energia (BÜCKER *et al.*, 2011).

Oliveira *et al.* (2008) destacam que a solubilidade da água em EAG's decresce com o aumento no comprimento da cadeia alifática (porção hidrofóbica), porém, aumenta com o grau de insaturação das moléculas e com a temperatura (15-50 °C).

Essa presença de água no biodiesel é um importante fator no controle de qualidade, podendo, dentre outros aspectos, contribuir na formação de emulsões (MONTEIRO *et al.*, 2008).

TABELA 11 – Resultados obtidos para alguns parâmetros das amostras de diesel e biodiesel avaliadas neste estudo e especificações segundo ASTM D 975, ANP N°. 42/2009, ASTM D 6752 e EN 14215.

Parâmetro	Unidade	Amostras de diesel		Amostras de biodiesel			Limites			
		D1	D2	BM1	BE1	BE2	Diesel		Biodiesel	
							ASTM D 975	ANP N°. 42/2009	ASTM D 6752	EN 14215
Massa específica a 20 °C	kg m ⁻³	837,9	862,0	881,2	875,0	873,7	-	820-865	-	860-900
Viscosidade cinemática a 40 °C	mm ² s ⁻¹	3,01	3,33	3,9	4,2	4,8	1,3-4,1	2,0-5,0	1,9-6,0	3,5-5,0
Índice de acidez, máx	mg _{KOH} g ⁻¹	-	-	0,10	1,03	0,06	-	-	0,50	0,50
Teor de éster, mín	% massa	-	-	95,5	90,5	94,1	-	-	-	96,5
Teor de água, máx	mg kg ⁻¹	-	-	1091,4	646,1	1331,6	-	-	500	500
Água e sedimentos, máx	% (v v)	<0,025	0,00	-	-	-	0,05	0,05	-	-
Número de cetano derivado, mín	-	50	51,1	52,2	49,4	47,6	40	46	47	51
Ponto de fulgor, mín	°C	42	92,5	80,5	34	26	52	38	130	120
Teor de metanol, máx	% (m m)	-	-	0,21	-	-	-	-	-	0,20
Teor de biodiesel	%	4,6	0,0	-	-	-	-	-	-	-
Enxofre total, máx	mg kg ⁻¹	397	33	-	-	-	500	50 ^a 500 ^b	-	-
pH [‡]	-	6,89	7,24	6,86	6,92	7,32	-	-	-	-

Nota: ^a Teor máximo em diesel S50; ^b Teor máximo em diesel S500.

‡ Parâmetro não regulamentado.

Na ocorrência de emulsões (presença de duas fases inicialmente imiscíveis), DeMello *et al.* (2007) propõe, intuitivamente, que os EMAG's parecem aumentar a estabilidade do diesel em água, em condições de turbulência, inferindo questões como a alteração da persistência e transporte de COH's no ambiente, e que os EMAG's em níveis suficientes podem diminuir a tensão superficial (γ) entre diesel-fase aquosa.

Observações similares foram relatadas por Bücken *et al.* (2011) quanto ao biodiesel promover a redução dos valores de γ . Esses autores exploraram as características estruturais dos EAG's comparando-as com as funções orgânicas existentes em surfactantes.

Analisando os valores obtidos para o número de cetano derivado (NDC) verifica-se o atendimento satisfatório aos limites estabelecidos nas amostras de diesel como biodiesel. Exceção, na verdade, para as amostras BE1 e BE2, em relação as especificações da EN 14215, na qual o NDC mínimo aceitável é de 51 °C. Pela literatura, o valor médio ($N=59$) do NDC é de $51,3 \pm 4,6$ °C no caso de EMAG's (HOEKMAN *et al.*, 2012).

O NDC é um excelente indicador de qualidade de ignição para motores do ciclo diesel, sendo conceitualmente semelhante ao número de octano do motores do ciclo Otto (ex.: gasolina). O padrão de alta qualidade na escala de cetano, que possui um NDC igual a 100 é o hexadecano, um hidrocarboneto de cadeia linear longa cujo nome usual é cetano (Figura 13), (KNOTHE, 2005). No caso do biodiesel a partir do óleo de soja (EMAG's ou EEAG's), valores de NDC ocorrem na faixa de 48 a 56 °C (KNOTHE, 2008), corroborando com os dados obtidos neste estudo (47,6-52,2 °C).

Em relação aos resultados obtidos para o ponto de fulgor (PF), ou a mínima temperatura em que a liberação de vapores do combustível líquido forma uma mistura inflamável com o ar (em quantidade suficiente), nota-se uma significativa diferença entre as amostras de diesel. Na amostra D1, o valor está conforme a ANP N° 42/2009, porém, ficou abaixo do valor preconizado pela ASTM D 975. Por outro lado, a amostra D2 apresentou um elevado PF, inclusive superior aos limites apresentados na Tabela 11 e o valor de 73,9 °C citado na Tabela 3. Esse resultado, muito provavelmente, está associado com a sua origem. Diferente da amostra D1, a amostra D2 foi obtida diretamente do processo de refino, ou seja, inexistem aditivos.

No caso das amostras de biodiesel, os resultados de PF são totalmente controversos aos valores esperados. Isso é facilmente percebido pelos limites dispostos pela ASTM D 6752 e EN 14215 e também pelos valores de PF listados na

Tabela 2 para os EAG's. Os valores inferiores, principalmente para as amostras de biodiesel etílico estão diretamente relacionado com a presença de álcool residual de reação. Segundo Gerpen e Knothe (2005), testes mostraram que teores próximos a 1% de álcool (neste caso metanol) no biodiesel podem reduzir o PF de 170 °C para valores inferiores a 40 °C. Na literatura, Hoekman *et al.* (2012) obteve um PF igual a 159 ± 18 °C (BM de óleo de soja), que, pelo valor médio, é o dobro do valor obtido na amostra BM1.

Entretanto, o teor de álcool (metanol) atendeu às especificações, mantendo-se no limite (0,21%). No caso do etanol, o método para quantificação não é contemplado pelas referidas normas. Pelos valores de PF obtidos (36 °C BE1 e 26 °C BE2), é possível inferir que o teor de álcool esteja na faixa de 1 a 2% (m m^{-1}).

Conforme discutido anteriormente, a amostra de diesel D2 é isenta de aditivos. Para a amostra de diesel D1 (comercial), o teor de biodiesel foi de 4,6%. Assim, o primeiro classifica-se como óleo diesel A (sem adição de biodiesel) e o segundo como óleo diesel B (adição de biodiesel no teor estabelecido pela legislação vigente), (Resolução ANP N°. 42/2009).

Por fim, os resultados obtidos quanto ao teor de enxofre também sub-dividiram as duas amostras em óleo diesel S50 (D2, 33 mg kg^{-1}) e S500 (D1, 397 mg kg^{-1}).

Na Tabela 12 constam os resultados obtidos por CG-MS para a composição dos EMAGs (%) a partir da amostra BM1. Foi verificado que os principais ésteres quantificados, ou seja, o palmitato de metila (PM), estearato de metila (EM), oleato de metila (OM) e o linoleato de metila (LM) indicaram uma proporcionalidade sobre a contribuição total e que se mostrou bastante condizente com a composição de AG's do óleo de soja descrita na literatura (HOEKMAN *et al.*, 2012).

A partir do percentual e da MM dos quatro principais ésteres, a MM_m dos EMAG's, EEAG's e a $MM_{\text{óleo}}$ foram calculadas segundo método descrito anteriormente (item 3.4.1.). É possível verificar a expressiva redução na MM_m das amostras de biodiesel (BM e BE) a partir da $MM_{\text{óleo}}$ em uma relação $MM_m \sim \frac{1}{3}MM_{\text{óleo}}$. Os resultados indicaram boa concordância com valores observados na literatura para BM e BE obtidos a partir do óleo de soja. (SANTOS, 2005), assim como para a $MM_{\text{óleo}}$ calculada (FROEHNER; LEITHOLD; JÚNIOR, 2007).

Com os valores de MM_m (BM e BE) e as respectivas massas específicas (Tabela 2), foram calculadas as respectivas concentrações.

TABELA 12 – Composição de EMAG's obtidos para a amostra BM1, valores da massa molar média (MM_m) dos EMAG's (BM) e EEAGs (BE), e massa molar ($MM_{\text{óleo}}$) do óleo utilizado (marca Leve, IMCOPA).

EMAG's (amostra BM1)	16:0 (PM)	18:0 (EM)	18:1 (OM)	18:2 (LM)	Outros
TP _i (%)	11,9	5,1	30,7	50,8	1,5
MM_m -EMAG's (g mol ⁻¹):	294,10 ^a	MM_m -EEAG's (g mol ⁻¹):		307,66 ^a	$MM_{\text{óleo}}$ (g mol ⁻¹):
					878,31 ^a

Nota: ^a Calculado conforme descrito no item 3.4.1 (Eq. 17 e 18).

4.2. PROPRIEDADES SURFACTANTES PARA MOLÉCULAS DE EAG's

4.2.1. Dispersão de luz para EAG's a partir da turbidez (τ)

O método associado as medições da turbidez (τ) para diferentes concentrações das substâncias de trabalho (EEAG's e amostras de biodiesel) se deu de forma prática e simples. Amostras controle (τ_0), constituídas somente de água destilada e deionizada, foram avaliadas intercaladamente para acompanhar possíveis alterações nos sinais de τ . Os valores de τ_0 foram plotados permitindo observar o seu comportamento. Na Figura 22, a linha horizontal central corresponde ao valor médio obtido (\bar{x}), igual a 0,24 NTU, indicando uma sensibilidade satisfatória do método desenvolvido neste estudo. Pela dispersão dos dados, 89,4% das informações obtidas foram classificadas entre os limites do desvio padrão.

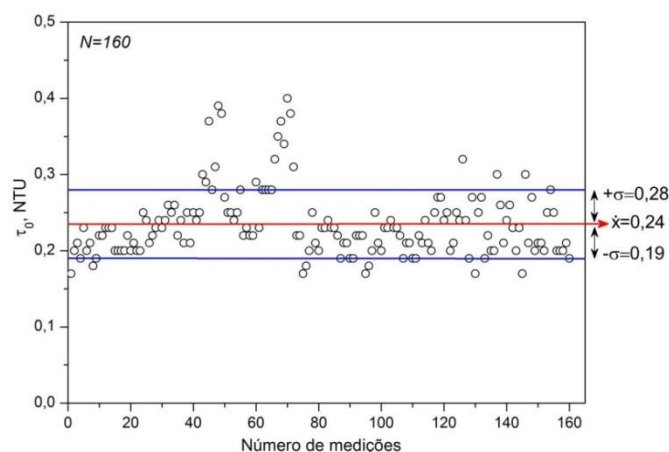


FIGURA 22 – Medições de turbidez (τ) para amostras controle contendo somente água destilada e deionizada.

Os resultados obtidos pelo emprego da técnica dispersiva de luz são discutidos na sequência. A predição da formação de agregados para os EEAG's (PE, EE, OE e LE) foi analisada a partir dos dados plotados em gráficos na base log-log (Figura 23).

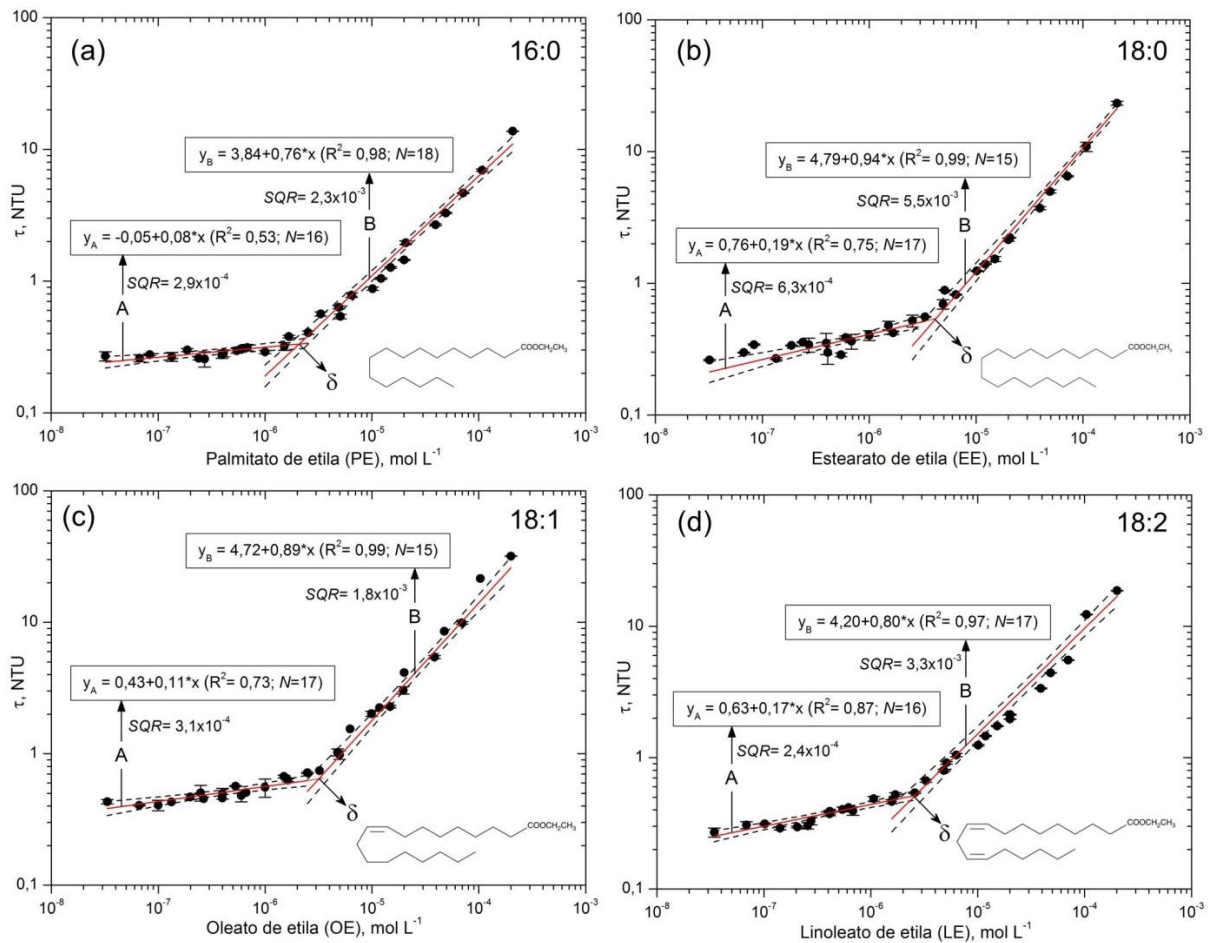


FIGURA 23 – Plot log-log da variação nas medições de turbidez (τ) em função da concentração molar dos EEAG's PE (a), EE (b), OE (c) e LE (d), avaliados na sua forma pura em meio aquoso. Nos gráficos são mostrados os dados experimentais (\bullet), o modelo de ajuste a partir de regressão linear simples (—) e o intervalo de confiança ($p < 0,05$), (---), discriminado para os dois grupos de dados (A e B), sendo reportadas as respectivas equações da reta, R^2 , N , SQR e o ponto de descontinuidade δ . As barras verticais representam o erro (σ) a partir das duplicatas analisadas.

Pela Figura 23 (a-d), notou-se que os valores de τ foram separados em dois grupos, **A** e **B**. Essa segregação de dados foi realizada a fim de descrever o mesmo comportamento esquematizado na Figura 10.

Isto significa dizer que houve ajuste linear dos valores experimentais pelo modelo de regressão linear (minimização do valor de χ^2 e ponderação com peso σ), fornecendo duas retas distintas em seu comportamento. O ajuste linear foi idealizado de forma a obter-se a melhor reta segundo a distribuição dos pontos amostrais, verificando também que os dados se agruparam de forma satisfatória para um nível de confiança de 95%, com reduzidos valores de SQR ($< 5,5 \times 10^{-3}$).

Pela intersecção entre as retas **A** e **B** ($y_A=y_B$), foi constatado um ponto de descontinuidade (δ) para uma determinada concentração molar do éster, avaliada na faixa entre 10^{-8} - 10^{-4} M (Tabela 13). Após δ , uma abrupta mudança no comportamento dos dados foi verificada, sendo diretamente proporcional aos valores de τ com o aumento da concentração dos EEAG's.

Mukerjee e Mysels (1971) comentam para o emprego das medições de turbidez como método de determinação da CAC, que quando plotados os dados experimentais, as soluções diluídas da substância em estudo (neste caso entre 10^{-8} - 10^{-6} M) devem apresentar uma leve inclinação positiva da reta, constatado neste estudo exatamente para as retas pertencentes ao grupo **A**. Verificou-se que o coeficiente de distribuição R^2 para as retas em **A** indicou uma tendência linear crescente, explicando 53% (PE), 75% (EE), 73% (OE) e 87% (LE) da variação total de τ e mostrando a existência de uma moderada a forte tendência linear com o aumento da concentração. Muito embora, a partir dos valores médios de τ nas soluções diluídas de cada éster etílico, foram verificados valores sempre < 1 NTU.

A dispersão de luz (τ) deve ser independente das concentrações da substância estudada abaixo da CAC, as quais devem, inclusive, apresentar valores constantes igualando-se ao sinal do solvente (τ_0), (PHILLIPS; MYSELS, 1954). Os valores de τ significam a presença somente de seus monômeros em solução para substâncias com atividade tensoativa ou capacidade de auto-agregação.

TABELA 13 – Valores de Δy_A e Δy_B e predição dos valores de δ em μM e mg L^{-1} a partir das medições de turbidez (τ), obtidos para os EEAG's avaliados individualmente na sua forma pura em meio aquoso. Os valores de RSD (%) representam a reprodutibilidade entre as réplicas avaliadas. Entre parênteses a amplitude observada para a variação entre as medições. Análises realizadas para $T 20 \pm 2^\circ\text{C}$.

EEAGs	Δy_A (NTU)	Δy_B (NTU)	δ (μM)	δ (mg L^{-1})	RSD (%)
PE (16:0)	0,14	13,4	1,91	0,54	3,8 (0,3-13,2)
EE (18:0)	0,29	22,8	4,27	1,33	5,2 (0,4-23,9)
OE (18:1)	0,31	31,2	3,16	0,98	4,1 (0,3-13,0)
LE (18:2)	0,27	18,2	2,14	0,66	3,4 (0,4-8,4)

Analisando o comportamento dos dados obtidos experimentalmente para a reta **B**, o modelo de regressão linear simples se ajustou satisfatoriamente aos dados, com valores de $R^2 \geq 0,97$. Considerando a concentração molar máxima avaliada nesses

experimentos ($\sim 10^{-4}$ M), as medições de τ cresceram linearmente na reta **B** até valores máximos de 14 NTU (PE), 23 NTU (EE), 32 NTU (OE) e 19 NTU (LE).

Essa mudança abrupta nos valores de τ , iniciada a partir da concentração molar que representa o valor de δ , demonstra a formação de espécies que devem ser maiores em tamanho do que os solutos na sua forma monomérica.

Ainda, o comportamento de τ para os EEAG's em meio aquoso relatado neste estudo é uma evidência da formação de auto-agregação (MYERS, 2006; KHAN, 2007), permitindo inferir que os valores descritos como δ sejam representativos da CAC.

Na Tabela 13 podem ser verificados os valores calculados para δ (CAC) na unidade molar (μ M), assim como para mg L^{-1} , através da *MM* de cada éster etílico (Tabela 2), e o comportamento observado entre as réplicas que proporcionaram validar a reprodutibilidade analítica através do parâmetro estatístico *RSD*.

A partir da intersecção calculada entre as retas **A** e **B**, os valores de δ ocorreram na mesma ordem de grandeza. Foi constatado que δ aumentou o seu valor com o aumento da cadeia alifática (C_{16} do PE para C_{18} do EE, OE e LE), devido à maior porção hidrofóbica, uma vez que a porção hidrofílica ($\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) é a mesma na estrutura molecular dos quatro ésteres etílicos (Tabela 2). Por outro lado, uma redução de δ entre os ésteres de cadeia carbônica C_{18} ocorreu com a presença de insaturações na molécula.

O método empregando a análise de turbidez para soluções aquosas preparadas para cada éster etílico apresentou resultados bastante conclusivos quanto ao comportamento esperado segundo o esquema da Figura 10, permitindo obter os prováveis valores de CAC para os EEAG's.

Na sequência, são apresentados os resultados de τ obtidos para as amostras de biodiesel preparadas em laboratório. Os experimentos foram avaliados para BM1 e BE2, justificado pelo maior teor obtido na fase de EAG's (Tabela 11).

Os resultados foram interpretados por meio dos gráficos em base log-log (Figura 24). Os valores de concentração são apresentados nas unidades de proporção volumétrica ($\% \text{ v v}^{-1}$) e molar (mol L^{-1}). A segunda foi calculada a partir dos valores de ρ (Tabela 11) e MM_m (Tabela 12). As escalas no eixo-x foram ajustadas permitindo conferir a mesma localização dos pontos para ambas as unidades. Foi possível

verificar novamente a distinção dos valores de τ a partir do ajuste linear de duas retas (**A** e **B**), agora para as misturas de EAG's nas amostras de biodiesel BM1 e BE2.

A interpretação dos resultados da Figura 24 sugere um predomínio de soluções diluídas para os pontos da reta **A** (MUKERJEE; MYSELS, 1971), com valores de $\Delta y_A < 0,7$ NTU, e também a presença característica de uma leve inclinação da reta com R^2 de 0,80 (BM1) e 0,83 (BE2), e reduzidos valores de SQR.

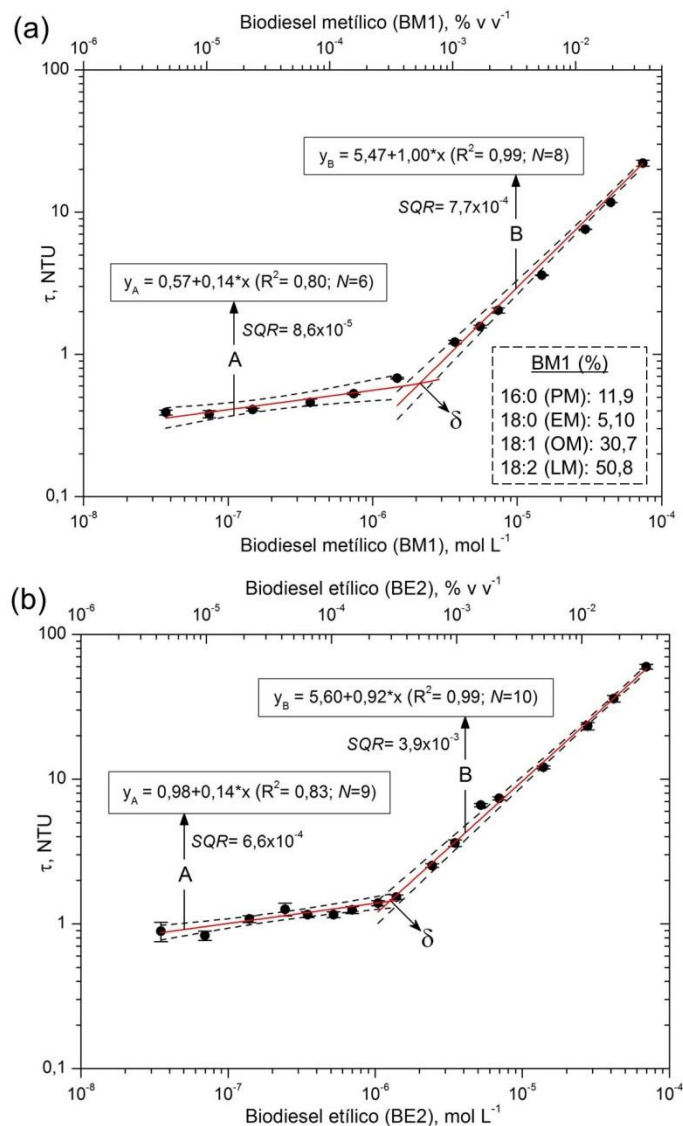


FIGURA 24 – Plot log-log para a variação nas medições de turbidez (τ) em função da concentração (% v v⁻¹) das amostras de biodiesel BM1 (a) e BE2 (b), avaliados a partir da composição percentual dos respectivos EMAG's e EEAG's em meio aquoso. Nos gráficos são mostrados os dados experimentais (\bullet), o modelo de ajuste a partir de regressão linear simples (—) e o intervalo de confiança ($p < 0,05$), (---), discriminado para os dois grupos de dados (A e B), sendo reportadas as respectivas equações da reta, R^2 , N , SQR e o ponto de discontinuidade δ . As barras verticais representam o erro (σ) a partir das duplicatas analisadas.

Isso permitiu indicar a tendência de crescimento linear com pontos bem distribuídos ($p < 0,05$) em uma estreita amplitude dos valores de τ , inferiores a 0,8 e 1,8 NTU, respectivamente para BM1 e BE2, ao passo que na reta **B**, os valores de τ na concentração máxima avaliada (na faixa de 10^{-4} M ou 3×10^{-2} % v v⁻¹) estiveram próximos a 30 NTU (BM1) e 70 NTU (BE1).

Dessa forma, sugere-se que o ponto de descontinuidade (δ) observado entre as retas **A** e **B** (Figura 24) para a composição mista de EAG's (BM1 e BE2), a qual correspondeu de forma similar aos EEAG's avaliados em um aumento linear de τ em função da concentração de biodiesel na fase aquosa para a reta **B**, com valores de R^2 indicando uma explicação praticamente de 100% da variação total dos dados (R^2 0,99), seja indicativo do valor de CAC, favorecendo a ocorrência de agregados proveniente da composição dos EAG's. Esses, reponsáveis pela notória mudança nos valores de τ , e pela maior amplitude verificada (Δy_B), Tabela 14.

TABELA 14 – Valores de Δy_A e Δy_B e predição dos valores de δ em % v v⁻¹, mg L⁻¹ e μ M, obtidos para as amostras de biodiesel BM1 e BE2, a partir das medições de turbidez (τ) avaliadas em meio aquoso. Os valores de *RSD* (%) representam a reprodutibilidade entre as réplicas avaliadas. Entre parênteses a amplitude observada para a variação entre as medições. Análises realizadas para $T 20 \pm 2^\circ\text{C}$.

Amostra de biodiesel	Δy_A (NTU)	Δy_B (NTU)	δ (μ M)	δ (mg L ⁻¹)	δ (% v v ⁻¹)	<i>RSD</i> (%)
BM1	0,29	21,4	2,01	0,59	$6,70 \times 10^{-4}$	2,6 (0,3-5,7)
BE2	0,64	58,5	1,19	0,37	$4,23 \times 10^{-4}$	4,8 (0,4-15,3)

Os resultados para δ (CAC) ocorreram na mesma ordem de grandeza daqueles verificados para os EEAGs (10^{-6} M), notando-se uma redução de δ com o aumento da parte polar na estrutura dos EAG's relacionados com a presença de um radical -CH₂ (de BM1 para BE2), como pode ser visualizado na Tabela 2 para as estruturas moleculares de EMAG's e EEAG's.

Verificando os valores de δ a partir da unidade volumétrica (% v v⁻¹), esses representaram uma fração volumétrica (f) significativamente pequena, entre 4×10^{-6} e 7×10^{-6} . Os prováveis valores que indicam a ocorrência de auto-agregação dos monômeros de EAG's a partir da composição química do biodiesel são 0,008% (BE2) e 0,014% (BM1) de f no caso de biodiesel a 5%. Estes correspondem a um fator de $11,8 \times 10^3$ e $7,46 \times 10^3$ vezes abaixo da solução a 5% de biodiesel, para as amostras obtidas via rota etílica e metílica, respectivamente.

4.2.2. Índice de polaridade do pireno para EAG's

Os resultados apresentados a seguir discutem o pireno como sensor químico fluorescente na formação de agregados de EAG's na fase aquosa.

A escolha deste poliaromático é justificada por sua elevada hidrofobicidade ($\log k_{ow}$ 5,01) e parcamente solúvel em meio aquoso (na ordem de 10^{-6} M), o que permite a sua migração para a porção hidrofóbica de agregados ou micelas. Por outro lado, está susceptível a dependência do solvente quanto a fortes perturbações nas intensidades de suas bandas vibracionais (I-V), permitindo estudar alterações na polaridade do meio (KALYANASUNDARAM; THOMAZ, 1977; NAKAJIMA, 1977), através de um dos métodos extensivamente empregados que é o índice de polaridade I/III (1:3) do pireno. Esse é representado por I_1/I_3 , correspondente a intensidade de emissão de fluorescência nas bandas vibracionais respectivas aos picos I (372 nm) e III (383 nm), conforme ilustrado na Figura 25. O espectro obtido refere-se a emissão de fluorescência contendo somente $SSat_{Pry}$.

Pelas considerações de Kalyanasundaram e Thomaz (1977), a razão III/I, oposta àquela mencionada acima, deve corresponder a um valor de $\sim 0,64$ na presença somente de pireno em meio aquoso. Neste estudo, as medições de fluorescência contendo somente $SSat_{Pry}$ (controle) foram similares, resultando em um valor médio de $0,65 \pm 0,04$ ($N=10$) para a razão III/I (ou I_3/I_1), ou 1,54 para I_1/I_3 , caracteristicamente associado com solventes polares como a água (I_1/I_3 1,3-2,0).

Conforme constatado para a técnica dispersiva de luz (τ) como um método de rastreamento da ocorrência de agregados de EAG's em meio aquoso, o emprego do índice I_1/I_3 , associado ao comportamento do micro-ambiente hidrofóbico do pireno (ZHAI *et al.*, 2005) e a sua sensibilidade para com a polaridade do meio, não é reportado na literatura no que diz respeito à EAG's constituintes da composição de biodiesel.

Foi aplicado como base conceitual para elaboração das etapas experimentais o trabalho desenvolvido por Mogelson, Pieper e Lange (1984). Como medida de confiabilidade da metodologia aplicada, o composto Tween 80 foi adotado como modelo de surfactante não iônico, visto que é frequentemente avaliado em estudos dessa natureza e com dados largamente disponíveis na literatura para análise comparativa, inclusive relacionando SMi de HPA's (MOHAMED; MAHFOODH, 2006).

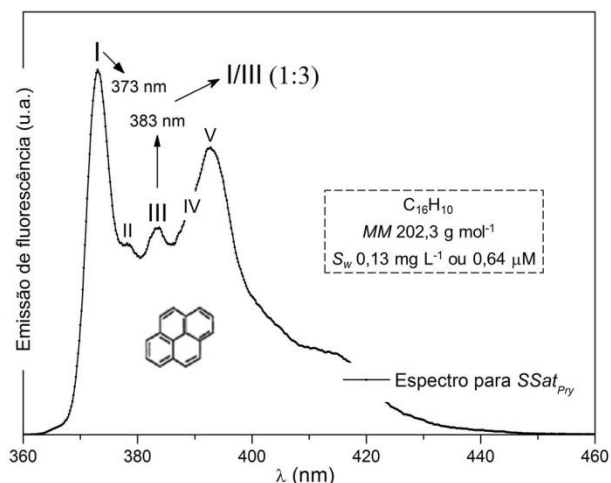


FIGURA 25 – Espectro para a $SSat_{Pry}$, e os cinco picos principais de emissão de fluorescência do pireno (I-V), com excitação em 343 nm.

É importante ressaltar que os resultados obtidos e extraídos a partir da interface computacional do espectrofluorímetro, foram primordialmente empregados na análise da razão I_1/I_3 . Essa foi avaliada segundo o modelo de ajuste sigmoidal proposto por Aguiar *et al.* (2003), descrito anteriormente (*item 2.1.3.*).

Na Figura 26 foram plotados os valores da razão I_1/I_3 obtidas para o surfactante Tween 80 em função da concentração molar (10^{-7} - 10^{-4} M). Nota-se que o gráfico interno é condizente com a distribuição dos pontos na escala linear, porém, não converge para um modelo sigmoidal, indicando um decaimento exponencial. Portanto, a predição do valor da CMC do Tween 80 foi avaliada em gráfico mono-log. Na Tabela 15 constam os parâmetros obtidos pelo ajuste do modelo sigmoidal.

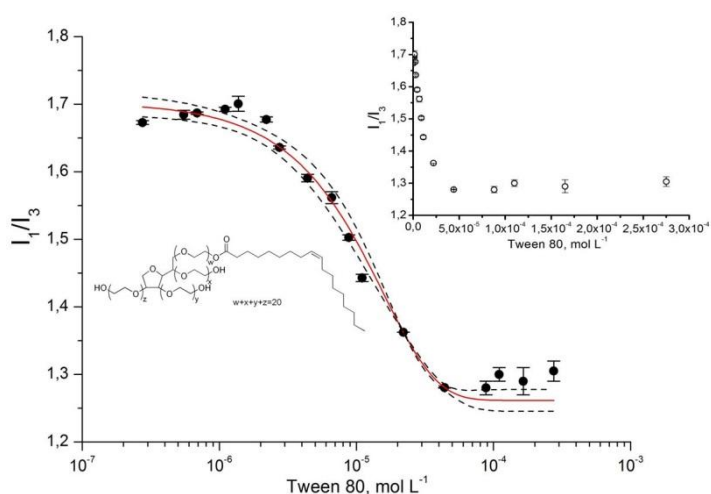


FIGURA 26 – Comportamento do índice de polaridade do pireno, razão I_1/I_3 (1:3), em função da concentração molar (base log) do surfactante não iônico Tween 80 em meio aquoso. Nos gráficos são mostrados os dados experimentais (\bullet), o ajuste sigmoidal modelado segundo a

função tipo Boltzmann (—) e o intervalo de confiança ($\rho < 0,05$) para os dados amostrais (----). As barras verticais representam o erro (σ) a partir das duplicatas analisadas, e o gráfico interno reproduz os dados plotados sem ajuste do eixo-x para base log.

TABELA 15 – Parâmetros do ajuste sigmoidal pela função tipo Boltzmann (x_0 , Δx , A_1 , A_2) do índice de polaridade do pireno (I_1/I_3 ou 1:3) para soluções aquosas do surfactante não iônico Tween 80. N é o número de dados experimentais, R^2 é o coeficiente de distribuição, $x_0/\Delta x$ é um coeficiente estimador e $(x_{CMC})_1$ e $(x_{CMC})_2$ os valores obtidos para a CMC. Os valores de RSD (%) representam a reprodutibilidade entre as réplicas avaliadas.

Substância	N	x_0	Δx	A_1	A_2	R^2	$(x_{CMC})_1^a$	$(x_{CMC})_2^b$	$(x_{CMC})_1$	$x_0/\Delta x$	RSD (%)
							μM	μM	$mg L^{-1}$		
Tween 80	17	$1,33 \times 10^{-5}$	$1,28 \times 10^{-5}$	2,95	1,26	0,99	13,3	38,9	17,4	1,04	<2,0

Nota: ^a x_0

^b $x_0 + 2\Delta x$

Pela Figura 26 verificou-se que a função decrescente (tipo Boltzmann) conferiu um ajuste sigmoidal bastante satisfatório, correspondente a um R^2 de 0,99 ($N=17$) e uma boa precisão entre as duplicatas analisadas ($RSD < 2\%$). O decaimento observado ocorreu de forma gradual, concordando com resultados obtidos por Aguiar *et al.* (2003) para outros surfactantes não iônicos. Esses autores discretizaram o comportamento entre tensoativos iônicos (abrupto) e não iônicos (gradativo) avaliando o intervalo de decaimento da sigmóide (Δx).

Para o Tween 80, tem-se um largo intervalo da razão I_1/I_3 (Δx), apresentando valor similar àquele obtido para o ponto de inflexão da curva (x_0).

Essa descontinuidade observada na razão I_1/I_3 com a presença de maiores concentrações de Tween 80 no meio aquoso ($SSat_{Pr}$) permite descrever a distribuição do pireno no núcleo micelar (ambiente hidrofóbico, “hydrocarbon-like”), evidenciado os efeitos da SMi desse hidrocarboneto poliaromático.

A CMC pode ser obtida a partir de dois pontos singular ou pela inflexão da sigmóide (x_0) ou a partir do valor de $x_0 + 2\Delta x$, respectivamente $(x_{CMC})_1$ ou $(x_{CMC})_2$.

Através da razão $x_0/\Delta x$, a distinção entre $(x_{CMC})_1$, ($x_0/\Delta x < 10$) e $(x_{CMC})_2$, ($x_0/\Delta x > 10$) permite selecionar o valor de maior confiabilidade representativo da CMC, podendo ser também diferenciado entre tensoativo não iônico e iônico (Aguiar *et al.*, 2003).

Foi verificado, portanto, que o coeficiente descrito acima reproduziu corretamente a escolha do valor da CMC, aceitando-se o valor de x_0 igual a $13,3 \mu M$ e $x_0/\Delta x$ igual a 1,04 (Tabela 16). O resultado obtido corrobora os dados extraídos da literatura, na faixa entre $9,9-12 \mu M$ (HAIT; MOULIK, 2001; DOONG; LEI, 2003).

Em resumo, o resultado deste experimento foi de fundamental importância na consolidação do protocolo experimental elaborado com a proposta de determinar a CAC para EAG's a partir da razão I_1/I_3 . Cabe destacar que o Tween 80 é um surfactante altamente solúvel em água, necessitando somente da sua diluição a partir de soluções estoque de concentração conhecida.

Por outro lado, o procedimento de análise para os EAG's consistiu primeiramente da evaporação de um solvente orgânico (*n*-pentano) para posterior redissolução em meio aquoso através de sonicação. Muito embora a solubilidade do Tween 80 não é favorecida em *n*-pentano, o mesmo foi substituído por metanol, possibilitando simular a evaporação do solvente orgânico, seguido da adição da $SSat_{PY}$, sonicação das amostras e análise de emissão de fluorescência. Os resultados obtidos foram conclusivos quanto ao procedimento estabelecido na análise da CMC e do bom desempenho verificado para o surfactante modelo.

Na sequência, a Figura 27 permite avaliar o comportamento de I_1/I_3 para os EEAG's, face à mudança da polaridade do meio, em função da concentração molar de cada éster etílico avaliado ajustada para base log. Essa correção na escala tem sido empregada com sucesso também por outros autores no tratamento dos dados para ajuste sigmoidal (HONDA *et al.*, 2002; HALASOVÁ; KROUSKÁ; PEKAR, 2011).

Um favorecimento da presença de ambientes de natureza hidrofóbica no meio aquoso, reduzindo, dessa forma, a razão I_1/I_3 , permitiram um ajuste satisfatório do modelo avaliado ($R^2 \geq 0,97$). Na Tabela 17 encontram-se sumarizados os parâmetros correspondentes.

Pela Figura 27 (a-d) ficou evidente o bom desempenho do ajuste sigmoidal pela função tipo Boltzmann (Eq. 1). Os dados apresentaram uma distribuição aceitável para um intervalo de confiança de 95%, correspondente ao modelo empregado e assumindo o erro incorporado para cada medição (realizadas em duplicatas), conferindo uma exatidão do procedimento analítico de preparo das amostras bastante adequada ($RSD < 1,0$).

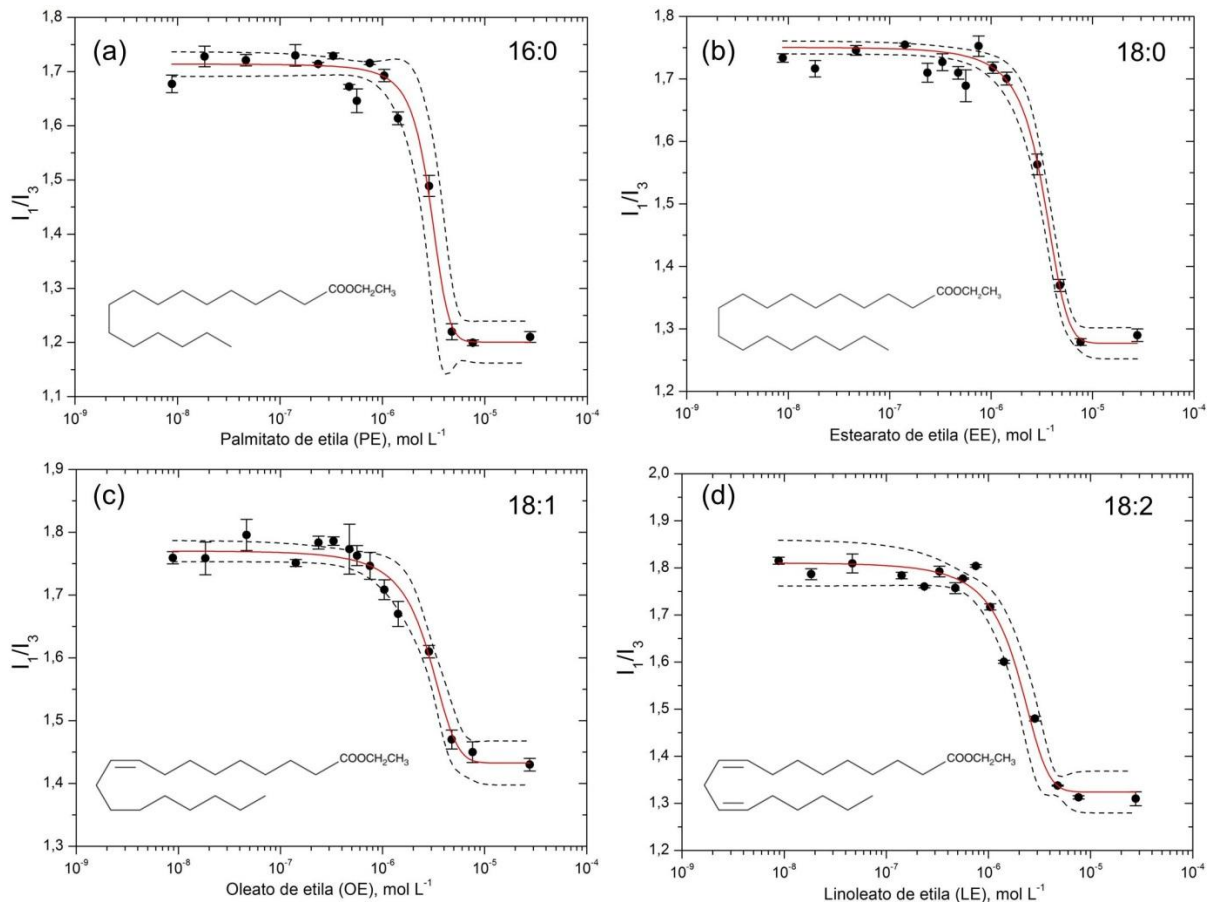


FIGURA 27 - Comportamento do índice de polaridade do pireno, razão I_1/I_3 (1:3), em função da concentração molar (base log) dos EEAG's PE (a), EE (b), OE (c) e LE (d), avaliados individualmente na sua forma pura em fase aquosa. Nos gráficos são mostrados os dados experimentais (\bullet), o ajuste sigmoidal modelado segundo a função tipo Botzmann (—) e o intervalo de confiança ($\rho < 0,05$) para os dados amostrais (---). As barras verticais representam o erro (σ) a partir das duplicatas analisadas.

Neste sentido, a análise dos parâmetros gerados como dados de saída (x_0 , Δx) permitiram uma discussão envolvendo a determinação da CAC para EEAG's através de I_1/I_3 .

A análise da sigmóide em função do decaimento de I_1/I_3 possibilitou distinguir o comportamento observado entre os EEAG's de cadeia alifática saturada (PE e EE) e EEAG's contendo insaturações na molécula (OE e LE). Isso significa interpretar no caso de PE (16:0) e EE (18:0) que uma abrupta mudança na polaridade do meio, mantida praticamente invariável para concentrações $\leq 10^{-6}$ M ($I_1/I_3 \sim 1,7-1,8$), foi observada. No caso dos ésteres OE (18:1) e LE (18:2), a descontinuidade ocorreu relativamente de forma mais gradual. Isso pode ser constatado pelos menores valores do coeficiente $x_0/\Delta x$ para OE e LE comparado aos ésteres de cadeia alifática saturada,

demonstrando que o intervalo entre o plateau máximo e mínimo aproximaram-se mais do valor de x_0 (Tabela 16).

TABELA 16 – Parâmetros do ajuste sigmoidal segundo função tipo Boltzmann (x_0 , Δx , A_1 , A_2) do índice de polaridade do pireno (I_1/I_3 ou 1:3) para os EEAGs avaliados na sua forma pura em fase aquosa. N é o número de dados experimentais, R^2 é o coeficiente de distribuição, $x_0/\Delta x$ é um coeficiente estimador, $(X_{CAC})_1$ e $(X_{CAC})_2$ os valores obtidos para a CAC e ε a constante dielétrica do meio em no ponto inferior da sigmóide (A_2). Os valores de RSD (%) representam a reprodutibilidade entre as réplicas avaliadas.

EEAGs	N	x_0	Δx	A_1	A_2	R^2	$(X_{CAC})_1^a$ μM	$(X_{CAC})_2^b$ μM	$(X_{CAC})_1$ mg L^{-1}	$x_0/\Delta x$	ε (A_2)	RSD (%)
PE (16:0)	15	$2,90 \times 10^{-6}$	$6,65 \times 10^{-7}$	1,72	1,20	0,98	2,90	4,23	0,82	4,36	15,6	<0,8
EE (18:0)	15	$3,21 \times 10^{-6}$	$1,02 \times 10^{-6}$	1,77	1,28	0,99	3,21	5,25	1,00	3,15	22,0	<0,7
OE (18:1)	15	$2,72 \times 10^{-6}$	$1,07 \times 10^{-6}$	1,80	1,43	0,97	2,72	4,86	0,84	2,54	34,0	<0,5
LE (18:2)	15	$1,85 \times 10^{-6}$	$7,92 \times 10^{-7}$	1,86	1,32	0,99	1,85	3,43	0,53	2,34	25,2	<1,0

Nota: ^a x_0

^b $x_0 + 2\Delta x$

Foi verificado também para todos os casos, que no plateau mínimo da curva sigmóide, os valores de I_1/I_3 tendem a serem mantidos constantes com o aumento da concentração de EEAG's, representados pelo ponto inferior da parte linear (A_2 , Figura 11), com valores iguais a 1,20 (PE); 1,28 (EE) 1,43 (OE) e 1,32 (LE).

O ajuste sigmoidal permitiu obter dois valores prováveis para a CMC do Tween 80, $(X_{CMC})_1$ e $(X_{CMC})_2$. A mesma análise foi feita para validar a auto-agregação de monômeros de EAG's. Nesse caso, similarmente à interpretação dos resultados de turbidez (τ), esses valores foram descritos como CAC, portanto, avaliados a partir de x_0 ($(X_{CAC})_1$) e $x_0 + 2\Delta x$ ($(X_{CAC})_2$).

Segundo os critérios publicados por Aguiar *et al.* (2003), um resultado condizente para os EEAG's foi a razão $x_0/\Delta x$ associar-se exclusivamente com valores <10, que, pelos resultados obtidos por esses autores para diferentes modelos de surfactantes, deve ser predominante para compostos anfifílicos de natureza não iônica. De fato, se retomado o modelo generalizado de um éster de ácido graxo (Figura 3), o resultado é reprodutível para selecionar o ponto de inflexão da sigmóide (x_0) como o valor correspondente a CAC dos EEAG's em meio aquoso (Tabela 16).

Isto vem ao encontro da interpretação dos valores de δ obtidos a partir das medições de turbidez. Ou seja, a CAC reduz-se primeiramente com o aumento da cadeia alifática saturada (C_{16} para C_{18}), e entre os EEAG's C_{18} reduz os valores pela presença de insaturações na parte apolar da molécula.

Analogamente, os valores de CAC extraídos da análise baseada na razão I_1/I_3 concordaram com aqueles determinados a partir de δ (Tabela 13), no que se refere a mesma ordem de grandeza (10^{-6} M). Pela diferença $\Delta_{CAC}(I_1/I_3-\delta)$, os EEAG's de cadeia C_{18} apresentaram menor CAC a partir da técnica fluorescente, diferente para o PE (16:0), no qual o valor menor foi aquele obtido a partir da turbidez (Figura 28).

A boa aproximação entre os valores determinados neste estudo para a CAC de EEAG's a partir de medições de turbidez (τ) e da razão I_1/I_3 foi um resultado bastante relevante. Isso porque corrobora com a literatura já consagrada (MYSELS; MUKERJEE, 1979), demonstrando valores para uma faixa muito pequena quanto a ocorrência do fenômeno de auto-agregação para monômeros de EEAG's, avaliados a partir de diferentes métodos. Permitiu também validar o princípio de que após δ , o aumento proporcional da turbidez à concentração é resultado da agregação de monômeros em meio aquoso, modificando de forma bastante representativa a capacidade das amostras em transmitirem luz, essa mais favorecida na presença de soluções monoméricas (concentrações diluídas).

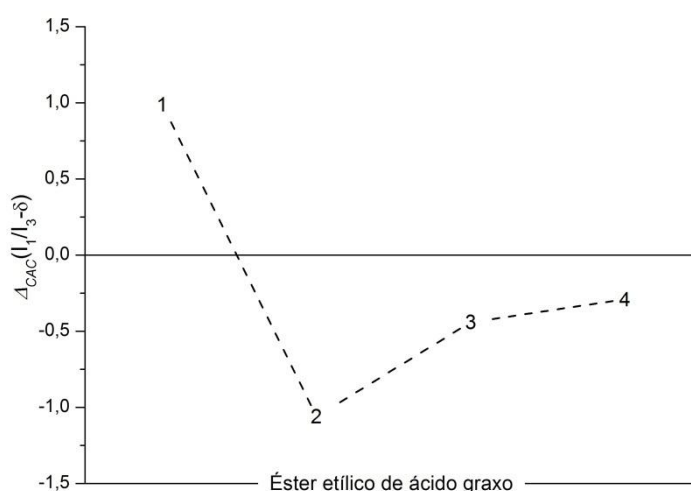


FIGURA 28 – Valores de $\Delta_{CAC}(I_1/I_3-\delta)$ determinados a partir dos resultados de CAC para os EEAG's PE, EE, OE e LE, representados no gráfico, nessa ordem, pelos números entre 1-4.

O efeito da presença de EEAG's em meio aquoso saturado com pireno ($SSat_{PY}$) no comportamento da polaridade do solvente foi condizente com os conceitos descritos na literatura, discutidos abaixo.

Pelo ajuste sigmoidal à distribuição dos pontos, (Figura 27), foi constatado que a partir de uma concentração específica, a polaridade do meio é fortemente perturbada, avaliado pela notória redução na razão I_1/I_3 , predominando ambientes de

natureza apolar (ZHAI *et al.*, 2005) e influenciada pela máxima variação na banda vibracional III normalizada a partir de I (0-0), (KALYANASUNDARAM; THOMAZ, 1977), sendo fortemente dependente das interações solvente-soluto em meio aquoso (NAKAJIMA, 1977).

Na Figura 29 é apresentado o comportamento da constante dielétrica do meio (ϵ), tido como um marcador da polaridade do meio sob efeito dos EEAG's. Na Tabela 16, os valores de ϵ são mostrados para o ponto A_2 do típico ajuste sigmoidal. Ressalta-se que esses valores de ϵ foram estimados segundo a relação l_1/l_3 vs. ϵ obtida da literatura (PASTOR *et al.*, 1998, *apud* WILK *et al.*, 2011). Para água, ϵ corresponde a um valor de 78,54 (KALYANASUNDARAM; THOMAZ, 1977).

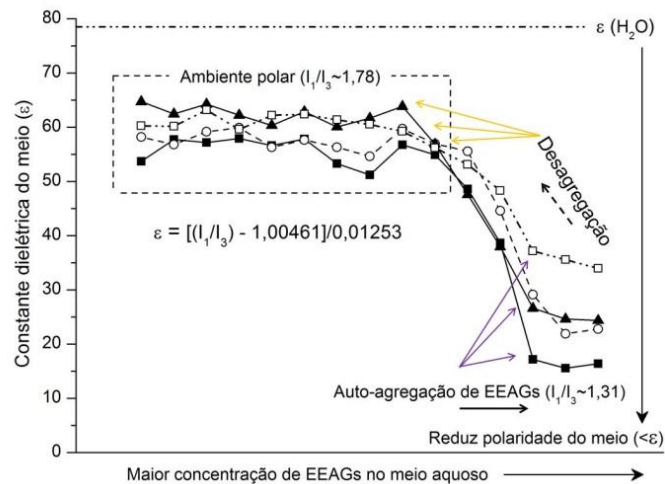


FIGURA 29 – Comportamento da constante dielétrica do meio (ϵ) na presença dos EEAG's palmitato de etila (■), estearato de etila (○), oleato de etila (▲) e linoleato de etila (□), em função da faixa de concentração molar estudada (10^{-8} - 10^{-5} M).

A Figura 29 esquematiza pelo perfil obtido para os valores de ϵ , um modelo do decaimento esperado para a polaridade do meio, sob influência da concentração crescente de EEAG's, reduzindo l_1/l_3 de ambientes caracteristicamente polares para condições de baixa polaridade ($l_1/l_3 \sim 1,31$ ou $l_3/l_1 \sim 0,76$), vindo de encontro a polaridade representativa de solventes aromáticos ($l_1/l_3 \sim 1,0-1,3$), (KALYANASUNDARAM; THOMAZ, 1977). É possível interpretar os resultado por dois pontos de vista diferentes: o fenômeno de auto-agregação ($>CAC$) é responsável pela perturbação do sistema, permitindo que moléculas de pireno migrem para o interior dos agregados com o aumento da concentração da substância anfífilica (EEAG's), mantendo os valores de l_1/l_3 constantes após A_2 os quais devem ser independentes

do sensor e da concentração do agente tensoativo (CHAKRABORTY; CHAKRABORTY; GHOSH, 2011), (i), ou partindo-se de concentrações superiores à CAC, promover a desagregação monomérica o que leva, portanto, à exposição das moléculas de pireno as condições iniciais de polaridade do meio (ZHAN *et al.*, 2005), (ii).

Os valores de ϵ para todo o conjunto de dados (PE, EE, OE e LE, $N=60$) na região predominantemente polar apresentou uma dispersão bastante reduzida ($58,9 \pm 3,1$, RSD 5,3%). Após essa região, um aumento da dispersão dos dados (RSD 36,4%) possibilita uma discussão sobre os efeitos na polaridade do meio, indicando que na presença de insaturações (18:1 e 18:2), um maior efeito da polaridade do meio deve ser favorecido.

Exemplo disso é a penetração da água no interior dos agregados, associada com o comprimento dessa estrutura (RAY; CHAKRABORTY; MOULIK, 2006; WILK *et al.*, 2011), representada pelo comprimento máximo da cadeia alifática, l_c , (TANFORD, 1972), que, considerando o comprimento das ligações C-C (0,153 nm) e C-C=C (0,151 nm) segundo Lide (2005), e as estruturas dos EEAG's (Tabela 2), resultam em valores de l_c de 2,14 nm (PE), 2,45 nm (EE), 2,20 nm (OE) e 2,13 nm (LE). Assumindo que o tamanho da molécula do pireno é igual a 0,77 nm (RAY; CHAKRABORTY; MOULIK, 2006), e que a água pode penetrar até 5 átomos de carbono da cadeia alifática dos ésteres C₁₆-C₁₈ a partir da extremidade polar representada por ligações C-C, é esperado que com o aumento de C_n , o tamanho efetivo da região hidrofílica por unidade de agregado deva diminuir, obtendo-se então valores de 1,53 nm (PE), 1,84 nm (EE), 1,59 nm (OE) e 1,52 nm (LE).

Cabe destacar que esse comportamento de formação de agregados para diferentes EEAG's é documentado pela primeira vez a partir desta pesquisa, dificultado seguir um padrão que permita esclarecer o papel da estrutura molecular desses ésteres quando presentes em meio aquoso.

Uma possível explicação relaciona o comentário exposto por Becerra *et al.* (2008). Para cadeias alifáticas mais longas, os valores de l_1/l_3 podem não mostrar uma clara dependência a partir de l_c , levando a detectar ambientes com um padrão de polaridade similar para todos os casos. Assim, consideraram duas situações: os micro-agregados podem apresentar polaridades semelhantes e independentes para $C_n > 12$, indicando porções hidrofóbicas similares mas não idênticas (i) ou o sensor

químico avaliado, nesse caso o pireno, possa migrar para regiões da porção hidrofóbica com características similares.

Além disso, é importante ressaltar a presença das ligações dupla C=C, as quais podem influenciar no comportamento de ésteres insaturados em meio aquoso relacionando a formação de agregados, assim como no distanciamento entre as moléculas. Considerando a estrutura dos AG's, precursores na formação de EAG's, notam-se exclusivamente ligações simples (ligação σ) para AG's saturados adicionadas de ligações duplas (ligação π) para AGs de cadeia insaturada (VIANNI; FILHO, 1996). Não obstante, na presença de ligações C=C é verificada uma limitação na flexibilidade da cadeia alquila (parte apolar nos EAG's) e um decréscimo na adesão entre as moléculas, diferenciando, dessa forma, as distâncias envolvendo as interações intermoleculares (KANICKY; SHAH, 2002).

Segundo Ray, Chakraborty e Moulik (2006), a diferença (ΔA) entre os extremos da parte linear da sigmóide (A_2-A_1) deve ser dependente do sistema, essencialmente sobre a sua polaridade micelar. A Figura 30 relaciona os valores de I_1/I_3 no ponto A_2 com o valor ΔA calculado para cada éster etílico.

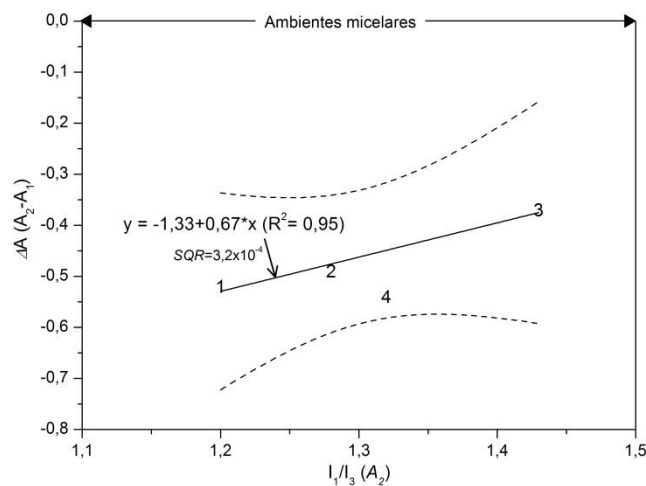


FIGURA 30 – Correlação linear ($\rho < 0,05$) entre os valores de I_1/I_3 avaliados no ponto A_2 da curva sigmóide vs. ΔA (A_2-A_1) do modelo de ajuste sigmoidal (Eq. 1), considerando os dados obtidos para PE, EE, OE e LE, representados no gráfico, nessa ordem, pelos números entre 1-4. No gráfico é mostrado o ajuste linear (—) relacionando PE, EE e OE no intervalo de confiança ($\rho < 0,05$), (----).

A partir dos ésteres PE (16:0), EE (18:0) e OE (18:1), um ajuste linear explicando 95% da variação total dos dados (R^2) indica maior tendência do OE sofrer influência da polaridade do meio ($>I_1/I_3$ em A_2) pela ocorrência da penetração de água no interior

dos agregados, diferente dos EEAG's de cadeia saturada, para os quais espera-se uma maior interação do pireno particionado para o interior das micelas, reduzindo a influência do solvente.

Uma divergência ao ajuste linear foi o resultado obtido para o LE (18:2), muito embora foi inserido no intervalo do nível de confiança ($\rho < 0,05$) adotado na correlação descrita acima. No entanto, reduz o valor de R^2 significativamente (0,44).

Ray, Chakraborty e Moulik (2006) sugeriram para surfactantes iônicos um maior efeito da polaridade do meio para compostos de menor cadeia alifática (de C_{16} para C_{10}) na direção de maiores valores de CMC, resultando em um ajuste com coeficiente de correlação bastante satisfatório (r 0,991), que neste estudo foi igual a 0,987 para a relação entre PE, EE e OE, e de 0,791 se acrescentado LE ($\rho < 0,05$).

Por outro lado, Kalyansundaram e Thomas (1977) propuseram que o índice de polaridade estudado em ambientes contendo agregados deve ser dependente da parte polar e independente do comprimento da cadeia alifática. No caso dos EEAG's, a parte polar mantém-se inalterada, com um valor de área correspondente a $0,263 \text{ nm}^2$ (www.chemspider.com) e a variação entre átomos de carbono é de apenas dois para a porção hidrofóbica, destacando-se, portanto, um provável efeito no comportamento observado a partir da presença de insaturações na molécula.

Uma importante consideração ainda na Figura 30, reside nos valores de I_1/I_3 , para os quais a presença de ambientes micelares/agregados deve ser observada na faixa entre 1,1-1,5 (RAY; CHAKRABORTY; MOULIK, 2006), concordando, portanto, aos valores de I_1/I_3 no ponto A_2 para os EEAG's neste estudo. Na mesma faixa citada, foi classificada a razão I_1/I_3 para surfactantes à base de estruturas de açúcares contendo duas cadeias hidrofóbicas ("*gemini surfactants*") com valores entre 1,41-1,50 (WILK *et al.*, 2011). Os autores indicaram a polaridade do interior das micelas (ou agregados) como sendo expressa pela polaridade da região local que o pireno é solubilizado e para os valores de I_1/I_3 obtidos indicaram um polaridade consideravelmente elevada para os sistemas estudados. Foram observados para essas condições de I_1/I_3 valores de ϵ entre 32,3-39,5.

Comparativamente, o OE foi o que apresentou valor similar (ϵ 34,0 em A_2), sendo que os demais (PE, EE e LE) apresentaram valores $\leq 25,2$ na ordem PE < EE < OE (Tabela 16). Segundo Yan *et al.* (2012), a interação hidrofóbica entre o pireno e as cadeias alifáticas do tensoativo é a principal razão para fundamentar conceitos sobre a localização do pireno nas micelas ou estruturas de agregados.

Na sequência, a razão I_1/I_3 também foi aplicada para as amostras de biodiesel BM1 e BE2, avaliadas para diferentes concentrações em meio aquoso. A Figura 31 ilustra a distribuição dos dados experimentais e o seu ajuste à típica curva sigmoidal decrescente. Os parâmetros obtidos através do modelo empregado (Eq. 1) são mostrados na sequência (Tabela 17).

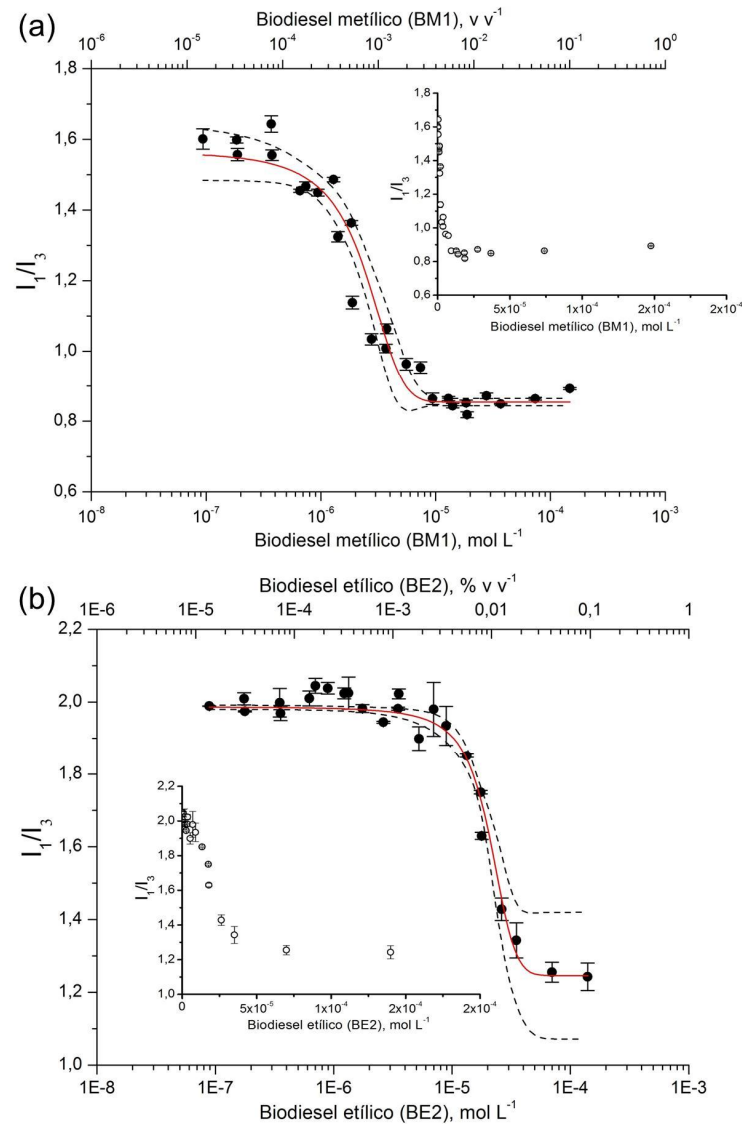


FIGURA 31 – Comportamento do índice de polaridade do pireno, razão I_1/I_3 (1:3), em função da concentração molar (base log) e volumétrica (% v v⁻¹) das amostras de biodiesel BM1 (a) E BE2 (b), avaliados em fase aquosa. Nos gráficos são mostrados os dados experimentais (●), o ajuste sigmoidal modelado segundo a função tipo Boltzmann (—) e o intervalo de confiança a 95% ($p < 0,05$) para os dados amostrais (----). O gráfico interno reproduz os dados plotados sem ajuste do eixo-x para base log.

TABELA 17 – Parâmetros do ajuste sigmoidal segundo função tipo Boltzmann (x_0 , Δx , A_1 , A_2) do índice de polaridade do pireno (I_1/I_3 ou 1:3) para as amostras de biodiesel BM1 e BE2. N é o número de dados experimentais, R^2 é o coeficiente de distribuição, $x_0/\Delta x$ é um coeficiente estimador, $(X_{CAC})_1$ e $(X_{CAC})_2$ os valores obtidos para a CAC e ε a constante dielétrica do meio em no ponto inferior da sigmóide (A_2).

Amostra	N	x_0	Δx	A_1	A_2	R^2	$(X_{CAC})_1^a$ μM	$(X_{CAC})_2^b$ μM	$(X_{CAC})_1$ mg L^{-1}	$x_0/\Delta x$	ε (A_2)	RSD (%)
BM1	26	$2,23 \times 10^{-6}$	$1,17 \times 10^{-6}$	1,67	0,85	0,98	2,23	4,57	0,66	1,91	-	<1,0
BE2	24	$2,07 \times 10^{-5}$	$5,76 \times 10^{-6}$	2,01	1,25	0,94	20,7	32,3	6,37	3,59	19,6	<6,0

Nota: ^a x_0

^b $x_0 + 2\Delta x$

É possível notar que a partir do conjunto de dados bastante representativo (N), o comportamento da curva sigmoidal foi condizente com os resultados experimentais, permitindo que esse ajuste matemático fosse também empregado para as amostras de biodiesel, permitindo explicar 98% (BM1) e 94% (BE2) da variação total dos dados (R^2), com réplicas bastante concordantes entre si ($RSD > 6\%$). É notável a diferença do ajuste entre as amostras BM1 (Figura 37a) e BE2 (Figura 37b).

Para BM1, a região de maior polaridade foi rapidamente influenciada pela sua presença em meio aquoso, indicando um decaimento gradual e um maior intervalo de Δx , bastante similar ao comportamento descrito para o Tween 80 (Figura 26). Aproximando-se também dos resultados obtidos para os ésteres etílicos OE (18:1) e LE (18:2), os quais podem representar entre 51-82% da composição de EAG's a partir das principais oleaginosas procedentes de origem vegetal. No entanto, contitui-se apenas de um dado comparativo, uma vez que os ésteres metílicos (EMAG's) não foram avaliados neste estudo na sua forma pura, somente a partir da sua mistura na composição de BM1, na qual 30,7% e 50,8% da composição representaram a contribuição de OE e LE.

Após o limite inferior da sigmóide (A_2), os valores foram constantes para concentrações $> 10^{-5}$ M e I_1/I_3 próximo de A_2 (0,85). Esse resultado demonstra o forte efeito na polaridade do meio, procedente da perturbação na fina estrutura do pireno, influenciando na emissão de fluorescência das bandas vibracionais I_1 e I_3 (KALYANASUNDARAM; THOMAZ, 1977).

Diferente da amostra BM1, o biodiesel obtido via rota etílica demonstrou um comportamento bastante similar ao verificado para os EEAG's de cadeia saturada avaliados na forma pura (PE e EE), principalmente quanto ao abrupto efeito na polaridade do solvente do meio na região de concentrações entre 10^{-5} - 3×10^{-5} M,

configurando um intervalo da descontinuidade inferior àquele obtido para BM1 em um fator de 6,7 vezes, conseqüentemente, um maior valor da razão $x_0/\Delta x$ (Tabela 17). É interessante destacar, comparativamente, que o sistema na presença de BM foi rapidamente afetado resultando no comportamento apresentado na Figura 31a, ao passo que na presença de BE, a polaridade foi preservada para uma maior faixa da concentração estudada (Figura 31b).

O valor de CAC para a amostra BM1 ocorreu na mesma ordem de grandeza e faixa de valores (μM) dos resultados obtidos para os EEAG's (Tabela 16), com valor igual a 2,23 μM , bastante similar ao valor calculado a partir das medições de τ (2,01 μM). Por outro lado, a razão I_1/I_3 resultou em um valor de CAC superior para a amostra BE2 em um fator de 9,3 vezes (20,7 μM).

Esse resultado, obviamente, diferenciou daqueles obtidos para os EEAG's na sua forma pura, tanto pelas medições de τ como pelo índice de polaridade do pireno (I_1/I_3). Curiosamente, o BE2 constitui-se quimicamente de uma mistura de EEAG's, porém, o mesmo comportamento quanto a CAC não foi evidenciado, inclusive comparando-se ao valor obtido a partir de τ (1,19 μM). Isso permite discutir que para BE2, o comportamento de I_1/I_3 pode estar associado a um maior efeito dos agregados presentes em meio aquoso, não necessariamente associados ao comportamento da estrutura molecular dos EEAG's.

Teoricamente, esse comportamento diferenciado da razão I_1/I_3 não deveria ocorrer a partir da cadeia alifática, uma vez que ambos, EMAG's (BM1) e EEAGs (BE2), apresentam C_n predominantemente C_{16} - C_{18} . A distinção ocorre somente a partir da adição do radical $-\text{CH}_2$ para as moléculas de EEAG's, destacado também nos resultados de τ .

Além disso, uma maior intensidade nos sinais de τ foram obtidos, comparando os dados obtidos para BM1, podendo indicar agregados de diferentes dimensões com efeitos distintos na polaridade do meio, avaliada a partir da migração do pireno para a região interior de características hidrofóbicas.

Garofalakis, Murray e Sarney (2000) ao estudarem a CAC para ésteres de açúcares presenciaram em alguns casos a presença de soluções turvas. A explicação fornecida pelos autores associou uma provável existência ou co-existência de uma fase distinta à fase de agregados, levando a um aumento nos valores de CAC determinados para algumas das substâncias estudadas.

Considerando a parte polar do éster de ácido graxo ($R'OCO^-$), é possível interpretar que o radical acilato (COO) está ligado a dois radicais orgânicos. A extensa cadeia alifática ($C_{16}-C_{18}$) na porção hidrofóbica e um radical metila ($-CH_3$) ou etila ($-CH_2CH_3$), respectivamente para EMAG's e EEAG's, porém, na porção dita hidrofílica. Isso significa que quando presentes no meio aquoso, o grupamento $-CH_3$ ou $-CH_2CH_3$ também podem associar-se ao comportamento constatado neste estudo para promover a agregação de moléculas de EAG's. No entanto, trata-se de uma hipótese sobre os tipos de mecanismos que podem representar as interações intermoleculares da mistura de EAG's presentes no biodiesel, com efeitos, inclusive na polaridade do meio, diferenciado neste estudo para BM1 e BE2 a partir de I_1/I_3 .

O efeito dos EAG's no equilíbrio do sistema através das perturbações na polaridade do solvente no meio, discutido pela relação ΔA vs. I_1/I_3 (A_2), (RAY; CHAKRABORTY; MOULIK, 2006), foi avaliado também na presença das amostras de biodiesel (Figura 32).

O melhor ajuste linear (R^2 0,996) foi obtido pela adição da amostra BM1 ao conjunto de dados previamente avaliados na presença de PE, EE e OE. Esse resultado destaca que a amostra BM1 relacionou um menor efeito da polaridade do meio. Em outras palavras, o reduzido valor de A_2 obtido da sigmóide (Figura 31a) e a rápida influência da presença da mistura de EMAG's (BM1) na polaridade do solvente, tornaram predominante um meio com características fortemente hidrofóbicas. Ainda, verificou-se que pela adição do LE (R^2 0,92) ainda obteve-se um bom ajuste e uma correlação linear (r 0,969, $p < 0,05$) pouco inferior ao primeiro caso (0,996). Na presença de todos os dados (1-6), o ajuste avaliado (R^2 0,55) foi significativamente afetado pela relação ΔA vs. I_1/I_3 (A_2) observada para a amostra BE2 (6 no gráfico), com redução na eficiência da correlação observada (r 0,798, $p < 0,05$). Por fim, destaca-se a correlação observada para BE2 e os dados obtidos para os ésteres contendo insaturações (OE e LE), com R^2 de 0,92 (r 0,980, $p < 0,05$).

Esse comportamento de BE2 associa-se à distribuição dos pontos que resultaram no ajuste sigmoidal mostrado na Figura 31b. Apesar da relação ΔA vs. I_1/I_3 (A_2) não classificar BE2 como esperado, o efeito procedente da ocorrência de agregados a partir de sua composição mista de EEAG's foi noticiado pela redução substancial no valor de ε (19,6 em A_2), similar aos menores valores obtidos para PE e EE (Tabela 16). No caso de BM1, o valor de ε foi mínimo ($\sim 7,6$ para $I_1/I_3 \sim 1,1$) antes

mesmo da sigmóide encontrar o ponto A_2 , no qual ε resultaria em um valor negativo segundo a equação empregada no cálculo (PASTOR *et al.*, 1998, *apud* WILK *et al.*, 2011).

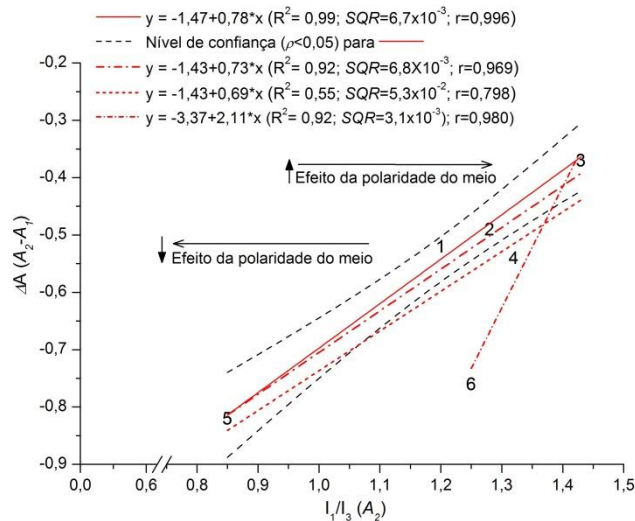


FIGURA 32 – Correlação linear ($\rho < 0,05$) da relação ΔA vs. $I_1/I_3 (A_2)$, considerando os dados obtidos para EEAG's no estado puro e amostras de biodiesel. Os números entre 1-4 representam os EEAG's na ordem PE, EE, OE e LE sendo BM1 e BE2 os números 5 e 6, respectivamente. Note que as linhas de cor vermelha em diferentes estilos representam o ajuste linear relacionando os pontos 1, 2, 3 e 5 (sólida), 1-5 (traço-ponto), 1-6 (traço curto) e 3, 4 e 6 (traço curto-ponto). O nível de confiança ($\rho < 0,05$) para a linha sólida também é apresentado (---).

Diferente dos resultados dos EEAG's no seu estado puro, para os quais a faixa de concentração estudada foi exclusivamente caracterizada por soluções opticamente transparentes ($\tau < 2$ NTU), a turbidez a partir de determinadas concentrações das amostras de biodiesel BM1 e BE2 poderiam influenciar os valores obtidos para I_1/I_3 , fielmente incorporados no modelo de ajuste sigmoidal.

O comportamento na emissão de fluorescência em I_1 (372 nm) e I_3 (383 nm) é mostrado na Figura 33. A interpretação dos dados indica que uma maior intensidade foi obtida para o sinal no pico III com o aumento da concentração de biodiesel para ambas as amostras, ocorrendo a partir de menores concentrações para a amostra BE2. A partir do % máximo em relação ao sinal obtido para a mesma concentração na presença de $SSat_{PIY}$, os valores foram sempre $< 10\%$ da emissão total nas respectivas bandas vibracionais. Na verdade, esse valor foi alcançado somente para os dois últimos ponto de BE2, sendo que os demais representaram valores $< 3\%$.

Para constatar, a intensidade de emissão de fluorescência considerando o conjunto amostral tanto de BM1 como BE2, na presença de $SSat_{Pry}$ e na faixa de concentração estudada, apresentou valores sempre na faixa entre 400-2500 u.a.

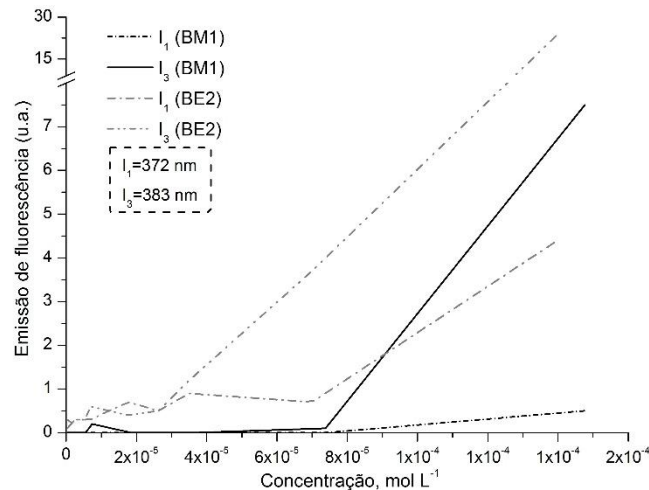


FIGURA 33 – Intensidade da emissão de fluorescência em I_1 (372 nm) e I_3 (383 nm) em função da concentração molar das amostras de biodiesel BM1 e BE2 em meio aquoso na ausência de pireno ($SSat_{Pry}$).

A partir da curva sigmóide obtida para a amostra BM1 (Figura 31a), é possível demonstrar que o efeito da turbidez é nulo quanto a sua interferência nos sinais em I_1 e I_3 . Essa afirmativa justifica-se pelos valores de I_1/I_3 característicos de reduzida polaridade do meio ($I_1/I_3 > A_2$) terem sido mantidos constantes, partindo-se de uma faixa de concentração de biodiesel de reduzida turbidez ($\tau < 3$ NTU) para maiores concentrações ($I_1/I_3 \sim 0,85$), com progressivo aumento de τ .

Sabendo que o modelo sigmoidal foi distinto para as amostras BM1 e BE2, pela reduzida emissão de fluorescência na ausência de pireno, os resultados de BE2 configuram também a formação de agregados de EAG's a partir da CAC, mesmo que uma interferência da turbidez somente ocorra para os valores da parte inferior da curva sigmoidal. Isso porque a descontinuidade observada após a ampla faixa de concentração característica de meio de maior polaridade (10^{-7} - 10^{-5} M ou 10^{-5} - 10^{-2} % v $^{-1}$), ocorre em uma região na qual τ na ausência de $SSat_{Pry}$, é demasiadamente pequena em relação ao sinal de fluorescência emitido em I e III.

Zhai *et al.* (2005) também verificaram a presença de uma aparência mais turva para maiores concentrações do sistema de surfactantes estudado, evidenciando que

o sinal I_1/I_3 foi mantido inalterado. Nesse caso, a turbidez foi verificada na transição entre estruturas micelares e largos agregados denominados vesículas (Fig. 5).

Na Figura 34, são apresentados os espectros de emissão de fluorescência para cada amostra estudada, sincronizando-os com as diferentes regiões associadas ao comportamento da razão I_3/I_1 , característica de uma sigmóide com direção positiva.

A distinta dependência do solvente do meio nas perturbações vibracionais promovidas nas bandas I e III do pireno, permitiu demonstrar que os EEAG's no seu estado puro e amostras de biodiesel, em meio aquoso, alteraram significativamente o sistema estudado, representado pela razão I_1/I_3 e relacionando a distribuição do pireno para a porção hidrofóbica constituinte dos agregados formados.

Evidências desse comportamento foram recentemente estudadas por Yan *et al.* (2012) a partir da simulação por meio de dinâmica molecular (nível atômico), permitindo demonstrar o processo de solubilização do pireno em micelas de lauril sulfato de sódio. Esse tipo de estudo permite avaliar as regiões da porção hidrofóbica que moléculas de pireno são preferencialmente acomodadas, como por exemplo, na parte periférica, próximo a região de maior polaridade, e não necessariamente no núcleo fortemente apolar.

Pela Figura 35, é possível notar que o comportamento da orientação do pireno é drasticamente afetada quando localizado mais afastado do centro de massa da micela (fortemente hidrofóbico), e pela sua aproximação a mesma confere a face plana da molécula perpendicular a superfície da micela ($\cos \theta=0$). De fato, outros conceitos estão envolvidos nessa discussão a nível atômico sobre o entedimento da SM_i do pireno, neste caso também um eficiente sensor para avaliação de distúrbios na polaridade do meio. No entanto é importante registrar que esse tipo de comportamento pode influenciar a auto-agregação de EAG's.

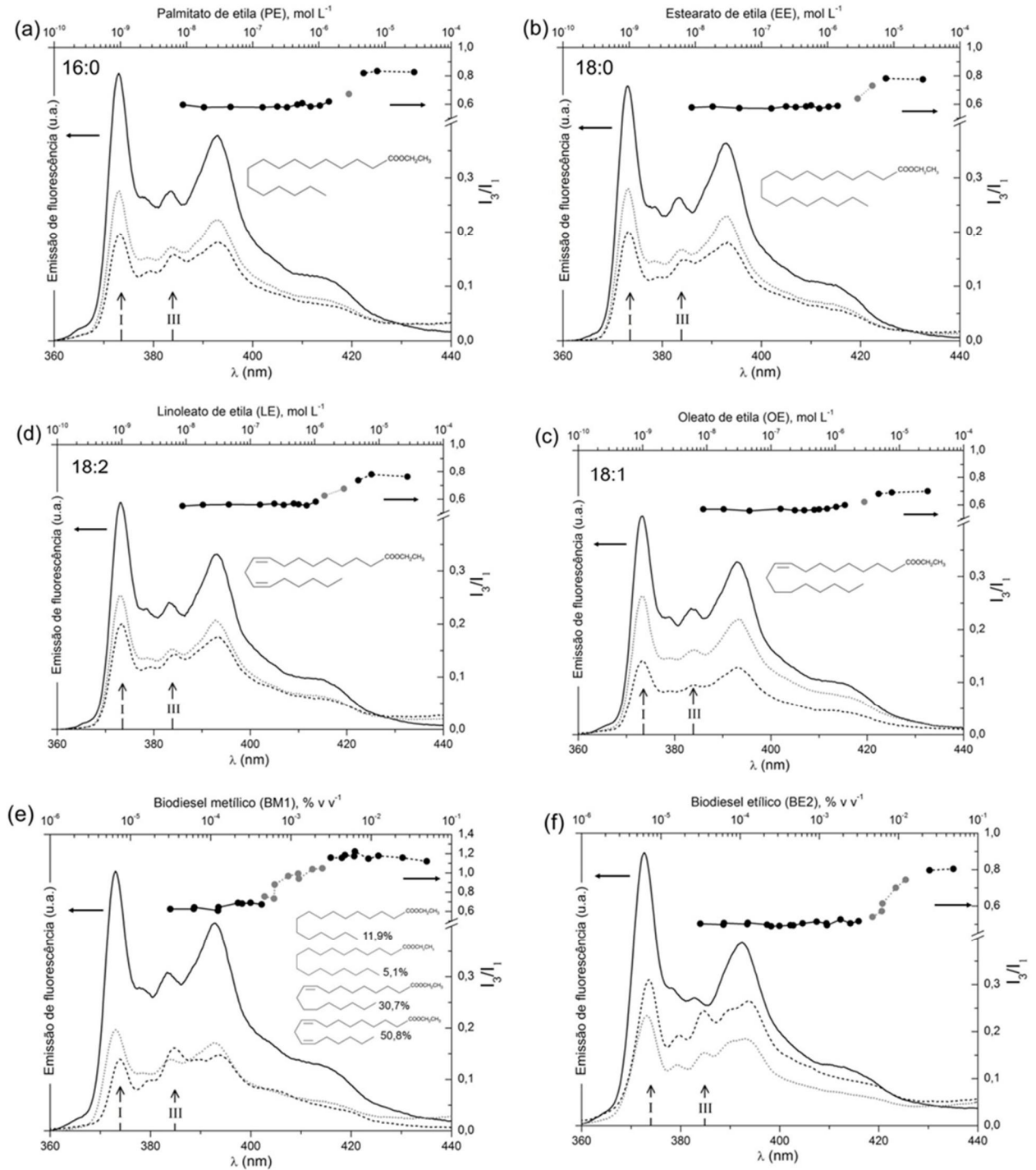


FIGURA 34 – Espectros de emissão de fluorescência observados para o comportamento da sensibilidade do pireno quanto a mudança na polaridade do meio na presença dos EEAG's PE (a), EE (b), OE (c) e LE (d) e amostras de biodiesel BM1 (e) e BE2 (f). No eixo-y (lado direito) a representação do índice I_3/I_1 (Kalyanasundaram e Thomaz, 1977) é apresentada. Note que a diferenciação de cores do símbolo e/ou o estilo de cada linha referenciam os espectros apresentados.

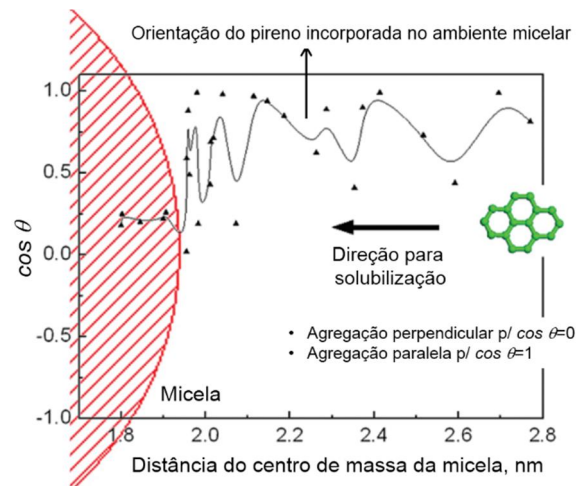


FIGURA 35 – Orientação do pireno como uma função da distância a partir do centro de massa da micela do lauril sulfato de sódio. Traduzido e adaptado de Yan *et al.* (2012).

Em resumo, o pireno como sensor fluorescente mostrou-se bastante adequado para prever a formação de agregados de EAG's. Isso significa que a presença dos compostos estudados favoreceu uma significativa perturbação dos sistemas, comprovando a eficiência da razão I_1/I_3 na identificação da CAC. Resultado desse comportamento é a partição de moléculas de pireno disponíveis em meio aquoso para o interior das estruturas de agregados na sua porção hidrofóbica. No caso dos EAG's, as cadeias alifáticas C_{16} - C_{18} .

Foi constatada a viabilidade no emprego do pireno como traçador na determinação de valores de CAC para compostos anfífilicos, neste caso os EAGs, avaliado por espectrofluorimetria. Adicionalmente, destaca-se a funcionalidade do pireno a partir da sua saturação em água (t_{eq} 24h, T 20 ± 2 °C, pH $7,41 \pm 0,3$) nos experimentos realizados, permitindo obter informações sobre o comportamento da polaridade próximo da região que representa a localização do sensor (pireno).

A mesma interpretação apresentada para os resultados de CAC a partir das medições de turbidez, considerando a unidade volumétrica ($v v^{-1}$), é ressaltada através do índice de polaridade I_1/I_3 . Os valores obtidos foram $7,44 \times 10^{-4} v v^{-1}$ (BM1) e $7,29 \times 10^{-3} v v^{-1}$ (BE2), representando a ocorrência de agregados a partir da mistura de EAG's do biodiesel em uma concentração mínima no meio aquoso, quando comparado aos percentuais empregados nas misturas Bxx (ex.: B2, B5, B20).

4.2.3. Relação da CAC com propriedades físico-químicas de EEAG's

Os resultados a seguir relacionaram os valores de CAC com algumas propriedades físico-químicas dos EEAG's estudados (PE, EE, OE, LE), Figura 36.

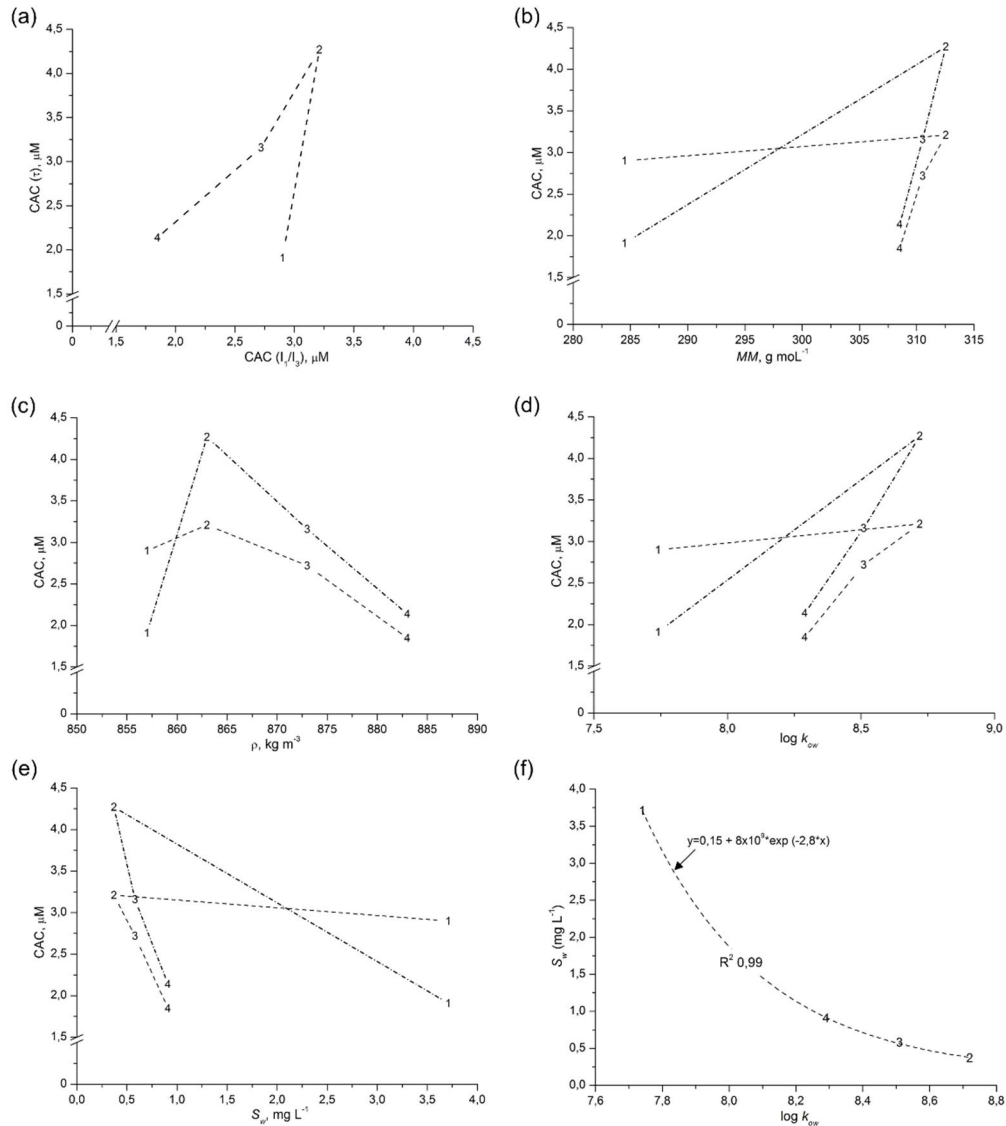


FIGURA 36 – Comportamento dos valores de CAC a partir de I_1/I_3 (---) e τ (linha traço-ponto) entre ambos (a), MM (b), ρ (c), $\log k_{ow}$ (d), S_w (e), e correlação $\log k_{ow}$ vs. S_w (f), a partir dos dados disponíveis na Tabela 3, para PE, EE, OE e LE, representados nessa ordem pelos números entre 1-4.

Pela Figura 36a foi verificado que os valores de CAC entre C_{16} e C_{18} (porção hidrofóbica), destacando as medições de τ nos EEAG's de cadeia saturada (PE e EE), podem relacionar-se com o aumento na MM (Figura 36b) e, conseqüentemente, influenciar no peso molecular dos agregados formados. No entanto, essa propriedade

não foi investigada neste estudo, muito embora, seja de grande importância para compreender os agregados formados, assim como o valor de N_{ag} .

A relação da CAC com os valores de ρ (Figura 36c), $\log k_{ow}$ (Figura 36d) e S_w (Figura 36e) não evidenciaram ao certo uma relação potencial envolvendo a formação de agregados de EEAG's em meio aquoso se considerando os quatro EEAG's estudados. No entanto, ao considerar somente as relações envolvendo os EEAG's C₁₈, foram verificadas significativas correlações (Tabela 18). Os resultados obtidos demonstraram correlações lineares muito fortes, sendo positiva para MM e $\log k_{ow}$ e negativa para ρ e S_w , indicando que além da presença de insaturações, tais propriedades podem relacionar-se com a formação de agregados.

TABELA 18 – Parâmetros do ajuste linear segundo modelo de regressão linear simples relacionando os valores de CAC (τ , I_1/I_3) com algumas propriedades físico-químicas (MM , ρ , S_w e $\log k_{ow}$) dos EEAG's EE (18:0), OE (18:1) e LE (18:2) perimentais, R^2 é o coeficiente de distribuição, $x_0/\Delta x$ é um coeficiente estimador, $(X_{CAC})_1$ e $(X_{CAC})_2$ os valores obtidos para a CAC e ε a constante dielétrica do meio em no ponto inferior da sigmóide (A_2)

Propriedade	CAC	R^2	SQR	Equação da reta ($y=a+b*x$)	ρ (<0,05)
MM (g mol ⁻¹)	τ	0,99	$1,2 \times 10^{-3}$	$y = -160,9 + 0,53 * x$	0,999
	I_1/I_3	0,95	$2,5 \times 10^{-2}$	$y = -102,2 + 0,34 * x$	0,987
ρ (kg m ⁻³)	τ	-0,99	$1,4 \times 10^{-3}$	$y = 96,2 - 0,11 * x$	-0,999
	I_1/I_3	-0,98	$2,5 \times 10^{-2}$	$y = 62,0 - 0,07 * x$	-0,987
S_w (mg L ⁻¹)	τ	0,95	$5,2 \times 10^{-2}$	$y = 5,59 - 3,87 * x$	-0,988
	I_1/I_3	0,99	$9,9 \times 10^{-4}$	$y = 4,16 - 2,53 * x$	-0,999
$\log k_{ow}$	τ	0,99	$3,2 \times 10^{-4}$	$y = -38,9 + 5,0 * x$	0,999
	I_1/I_3	0,98	$2,0 \times 10^{-2}$	$y = -24,4 + 3,2 * x$	0,989

4.2.4. Evidências da formação de agregados para EAG's (CAC)

A partir de extensiva revisão de literatura, constatou-se que o foco desta pesquisa representa uma abordagem sem precedentes de estudos, configurando um caráter inédito. A literatura consultada permitiu a formação de algumas considerações relevantes que possibilitassem compreender o fenômeno em questão, ou seja, a auto-agregação de EAG's em meio aquoso.

O emprego da CAC neste estudo foi adotado pois permite descrever o efeito existente para EAG's formarem agregados no meio aquoso. Porém, sem uma discussão aprofundada sobre o seu comportamento no sistema. Isso significa dizer que a discussão dos resultados obtidos a partir da CAC não assume aspectos sobre a natureza, tamanho e forma dos agregados, os quais podem relacionar, portanto (a)

agregados de tamanho finito (ambientes micelares) ou infinito (separação de fases). Esse mesmo termo tem sido utilizado por outros autores em estudos relacionando substâncias para as quais a sua capacidade de auto-agregação não eram reportadas na literatura (GAROFALAKIS; MURRAY; SARNEY, 2000; YAN; LI; ZHAO, 2010).

Por outro lado, o termo CMC é prontamente adotado quando se tem conhecimento das propriedades micelares esperadas no estudo de uma substância sem precedentes de dados publicados. Foi o que Alam *et al.* (2013) demonstraram recentemente quanto a funcionalidade do pireno em determinar valores de CMC para um surfactante polimérico baseado no óleo de soja sintetizado pelos autores.

Diferente da técnica empregada neste estudo (I_1/I_3 baseada na emissão de fluorescência), a CMC foi estudada fixando-se um comprimento de onda de emissão (390 nm) e monitorando o espectro de excitação (300-600 nm). No entanto, de forma similar à razão I_1/I_3 , os dados foram avaliados pela razão $I_{336,5}/I_{332,5}$, envolvendo a emissão em 390 nm a partir da excitação do pireno nos respectivos comprimentos de onda do índice, como um estimador da presença de micelas no meio justificado pelo desvio para o vermelho com o aumento na concentração da substância estudada.

Na sequência, a faixa de valores obtidos neste estudo relacionando valores de CAC para EEAG's foram tabelados em comparação aos valores de outros compostos que representam a ocorrência de agregados ou ambientes micelares (Tabela 19).

TABELA 19 – Faixa de valores de CAC (mM) obtidas neste estudo para EEAG's (PE, EE, OE, LE) para análise comparativa com alguns substâncias de atividade tensoativa conhecida e contendo AGs como precursores da sua estrutura molecular.

Substância	Tipo	Método empregado	CAC/CMC (mM)
EEAGs (18 :0-20 :0-18 :1-18 :2) ^a	Não iônico	Dispersão de luz (turbidez)	$1,9 \times 10^{-3}$ - $4,3 \times 10^{-3}$
		Índice de polaridade do pireno (1:3)	$1,9 \times 10^{-3}$ - $2,0 \times 10^{-3}$
Oleato de etila (18 :1) ^b	Não iônico	Membrana de diálise	$2,6 \times 10^{-4}$
		Solubilização de corante fluorescente	$3,4 \times 10^{-4}$
Ésteres de açúcar de AGs ^c	Não iônico	Tensão superficial	$2,0 \times 10^{-3}$ - $3,3 \times 10^{-1}$
Ésteres de sacarose ^d	Não iônico	Índice de polaridade do pireno (1:3)	$1,2 \times 10^{-2}$ - $3,3$
PIP 9-PIP 13 ^{e, ‡}	Iônico	Tensão superficial	$2,7 \times 10^{-1}$ - $7,7 \times 10^1$
Ésteres de frutose ^f	Não iônico	Tensão superficial	$6,0 \times 10^{-2}$ - $2,2 \times 10^{-1}$
Monoésteres de sorbitan (POE20) ^g	Não iônico	UV-Vis	$1,1 \times 10^{-2}$ - $5,5 \times 10^{-2}$

Fonte: ^a Este estudo (2013); ^b Mogelson *et al.* (1984); ^c Ferrer *et al.* (2002); ^d Becerra *et al.* (2008); ^e Wüstneck *et al.* (1994); ^f Sultani *et al.* (2003); ^g Hait e Moulik (2001).

Nota: ‡ Ésteres etílicos do ácido maleico mono+2-(4-alkilpiperazinil).

Uma primeira consideração extraída da Tabela 19, senão a mais importante, refere-se ao trabalho desenvolvido por Mogelson, Pieper e Lange nos anos 1980.

Interessados no comportamento termodinâmico de EEAG's sintetizados a partir do miocárdio (músculo cardíaco), adotaram o éster oleato de etila (OE) como substância modelo para seu estudo.

Dentre outros aspectos, foi demonstrado o fenômeno de auto-agregação de monômeros do OE como sendo termodinamicamente favorável em meio aquoso ($\Delta G_{ag} -11,1 \text{ kcal mol}^{-1}$, 37°C), permitindo explicar o seu comportamento acumulativo no miocárdio procedente da exposição *in vivo* ao etanol. A determinação, portanto, do valor de CAC, foi avaliado por duas técnicas distintas. Uma delas foi denominada incorporação de um sensor fluorescente, para a qual diferentes concentrações do OE (10^{-8} - 10^{-5} M) foram sonicadas na presença de solução aquosa saturada com *N*-naftilanilina. Pelos resultados, foi observada uma descontinuidade na emissão de fluorescência do sensor empregado, correspondendo, portanto, à formação de agregados, com valor de CAC igual a $0,34 \mu\text{M}$. O segundo método, avaliado a partir da taxa de difusão do OE (10^{-8} - 3×10^{-6} M) através de membranas de diálise com porosidade específica para excluir agregados formados a partir de três moléculas, resultou em um valor ainda menor e igual a $0,26 \mu\text{M}$ (Figura 37).

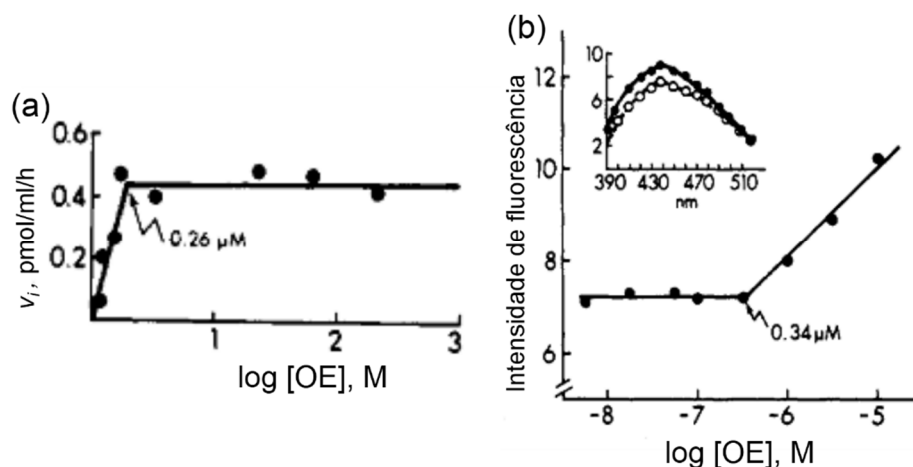


FIGURA 37 – Representação dos métodos de diálise (a) e fluorescência (b) empregados por Mogelson, Pieper e Lange (1984) na determinação do valor de CAC em meio aquoso em função da concentração molar, $\log[\text{OE}]$. Os valores destacados (μM) correspondem a CAC. Traduzido e adaptado de Mogelson, Pieper e Lange (1984).

Dessa forma, verificou-se que os valores de CAC para OE obtidos a partir de τ e I_1/I_3 neste estudo ocorreram uma ordem de grandeza acima dos valores obtidos por Mogelson, Pieper e Lange (1984). É importante destacar que uma ausência de dados para análise comparativa entre outros ésteres de cadeias alifáticas longa foi observada pelos autores.

Isso evidencia a relevância desse estudo, dado que a mesma conclusão foi tomada na extensa análise de literatura, mostrando uma ausência de estudos no âmbito da linha de pesquisa deste estudo para um intervalo próximo as últimas três décadas. Considera-se também que a intensificação na produção e consumo de biodiesel em larga escala (LIN *et al.*, 2011) é bastante recente, com forte tendência de crescimento a partir do ano 2000.

Um consenso geral que se tem sobre o comportamento da CAC/CMC, é a redução da concentração que evidencia a auto-agregação de monômeros em meio aquoso com o aumento de C_n da porção hidrofóbica. Dessa forma, espera-se uma redução para cadeias alifáticas maiores (FERRER *et al.*, 2002). Um bom exemplo desse comportamento foi verificado para ésteres de sacarose contendo diferentes unidades de metileno (6-18), para os quais um bom ajuste linear decrescente em função do aumento da cadeia alifática foi verificado a partir dos valores de log CMC, (BECERRA, 2008).

Pela faixa de valores da Tabela 19, é possível verificar que a ocorrência de agregados de EAG's relacionou concentrações em uma faixa muito pequena de variação (na ordem de 10^{-3} mM), confirmado pelos valores de OE a partir de Mogelson, Pieper e Lange (1984) e predominantemente inferior aos valores disponibilizados para comparação a partir dos demais compostos.

Huibers *et al.* (1996) citam que valores de CMC (ou CAC) baixos indicam que é termodinamicamente favorável para o domínio hidrofóbico da molécula do composto anfifílico em deixar o meio aquoso, resultando em uma concentração em excesso na interface ar:água, além da formação de agregados.

Algumas considerações sobre a formação de EAG's em meio aquoso são brevemente discutidas, tomando como base os valores de CAC em mg L^{-1} determinados a partir de τ e I_1/I_3 .

A partir dos dados de S_w disponíveis para EEAG's (Tabela 2) e os resultados obtidos para EEAG's no seu estado puro (Tabelas 13 e 16) foi possível verificar que os valores relacionados com a ocorrência de agregados no meio aquoso diferem de 2

a 4 ordens de grandeza acima da S_w , que por sua vez ocorre na faixa entre 0,3-4 $\mu\text{g L}^{-1}$, sendo superior para o PE (C_{16}), reduzindo ao valor mínimo com o aumento da cadeia alifática saturada (EE), e, pela presença de insaturações na molécula, aumenta gradativamente de EE (18;0) para OE (18:1) e de OE para LE (18:2).

O comportamento dos EEAG's em meio aquoso permite inferir que o sistema não deva ser homogêneo, mas sim heterogêneo a exemplos das emulsões, devendo consistir de pelo menos um componente disperso (éster) em outro (água), representado na forma de pequenas gotículas, geralmente com diâmetro menor que 0,1mm (MYERS, 2006).

Cabe destacar que o emprego de EAG's tem sido verificado na literatura, não necessariamente como um representante de compostos anfifílicos com potencial formação de agregados, mas como fases orgânicas em sistemas heterogêneos tal como as emulsões, na presença de fases orgânica e aquosa e substâncias anfifílicas como agentes estabilizantes (WELLERT *et al.*, 2008; KAUR *et al.*, 2012).

Sabatini, Knox e Harwell (1995) reportam que compostos anfifílicos também podem ser caracterizados pelo balanço hidrófilo-lipófilo (BHL). Se o valor de BHL for alto predomina-se a maior solubilidade em água e se o contrário for observado, os surfactantes são lipofílicos e, portanto, maior a sua solubilidade na fase orgânica. A determinação de BHL pode ser obtida a partir da expressão $BHL=20*(MM_p/MM)$, em que MM_p e MM representam o peso molecular da porção hidrofílica e total da substância, respectivamente (GRIFFIN, 1949, *apud* SOULTANI *et al.*, 2003). Assim, para os EAG's o cálculo de MM_p considerou o radical $-\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ para os EEAG's (Tabela 3). Os valores de BHL calculados ocorreram na faixa de valores entre 4,0-5,5 classificando-os como fracos dispersantes (KRUGLYAKOV, 2000). No entanto, não significa, necessariamente, que o BHL de EEAG's apresente alguma relação com a formação de agregados nos sistemas avaliados neste estudo.

A semelhança dos agregados com a atividade tensoativa pode ser analisada a partir do estudo realizado por DeMello *et al.* (2007). Os autores discutiram que os EMAG's (ou EEAG's) quando presentes em sistemas de equilíbrio de fases diesel:água a partir da composição química do biodiesel, provavelmente, permitem uma estabilização do diesel (gotas do óleo) na fase aquosa, levando a uma diminuição na tensão superficial no sistema água:óleo, considerando seu comportamento similar ao observado para surfactantes.

De fato, para sistemas envolvendo emulsões Myers (2006) destaca os processos que permitem estabilizar soluções heterogêneas, dentre os quais os tensoativos. Esses são capazes de reduzir a energia livre e interfacial existente entre uma fase dispersa e uma fase contínua como diesel e água, respectivamente.

Tixier *et al.* (2000) destacaram que as propriedades de surfactantes para formarem agregados em meio aquoso representam um papel fundamental para cadeias mais longas de ésteres. Sugerem também que dois tipos de estruturas devem ser consideradas: agregados mistos contendo moléculas de ésteres e micelas formadas apenas pelo surfactante. No entanto, foram realizados experimentos com ésteres etílicos (C₄-C₈) na presença de NaOH em meios bifásicos (água:óleo), avaliando-se a hidrólise aquosa dos ésteres e a presença de ésteres contendo agregados capazes de mediar transferência de fase a partir de f_{org} para f_{aq} .

Comparativamente, não representam o mesmo tipo de sistema avaliado neste estudo, no qual os EAG's C₁₆-C₁₈ foram estudados somente na presença do meio aquoso para avaliar a ocorrência da auto-agregação de monômeros.

Krop *et al.* (1997) apontaram uma importante consideração relacionando a ocorrência de agregados de EAG's. Esses autores relataram a dificuldade na determinação de propriedades como S_w para diferentes ésteres inclusive C₁₆-C₁₈, uma vez que a medição pode ser prejudicada justamente devido à formação de sistemas heterogêneos contendo emulsões ou ambientes micelares.

Experimentos realizados na década de 1930 por Sobotka e Kahn (1931), tiveram como objetivo determinar valores de S_w para líquidos parcialmente solúveis em meio aquoso. Selecionaram um corante orgânico, de tal maneira que quando adicionado em água era dissolvido juntamente ao éster de interesse até um determinado limite, obtendo-se a saturação do éster. Posteriormente, uma nova fase líquida de pequenas gotículas de éster foi tomada, sendo dissolvida e interagindo com a fase sólida remanescente no corante. Assim, foi provável que a presença de auto-agregação acima do limite da solubilidade dos ésteres possa ter levado a uma solubilização do corante orgânico no meio aquoso.

Andresen e Kirk (1995) discutiram sobre o comportamento de ésteres de açúcares (etil glucosídeo) e destacaram que, obviamente, representam estruturas contendo a função éster, sendo essa propriedade a responsável por limitar a estabilidade da substância no meio aquoso. Ao discutirem sobre a sua fraca

solubilidade em água (S_w), a relacionaram com a sua estrutura molecular devido à parte hidrófila ser bastante reduzida quando comparada com a porção hidrofóbica.

Por fim, a teoria de formação de agregados de EAG's apresentada por Mogelson, Pieper e Lange (1984) é incorporada nesse tópico de discussão.

A partir dos resultados obtidos para a auto-agregação de monômeros de OE comprovada pelos autores, foi considerado que a presença de moléculas do éster em concentrações superiores à solubilidade de seus monômeros decorre da agregação monomérica termodinamicamente favorável. Pela análise termodinâmica, os agregados de OE representam uma fase de hidrocarboneto separada, tendo nos monômeros a fração de éster solúvel em água e nos agregados a quantidade de hidrocarbonetos presente em excesso de solubilidade. Dessa forma, a presença de agregados deve representar um evento que ocorre acima dos limites de solubilidade do éster etílico e as mudanças na energia do sistema (ΔG_{ag}) associam-se com o equilíbrio entre os monômeros do éster etílico de ácido graxo e os seus agregados:



Em que o subscrito m denota a fase monomérica na solução e ag a fase formada pelos agregados.

Neste contexto, pelas análises feitas a partir dos resultados obtidos, o termo que deve retratar corretamente o comportamento dos EAG's (PE, EE, OE, LE, BM1 e BE2), selecionados para a realização de estudo é a CAC. É provável que os agregados existentes no meio aquoso que segue o equilíbrio mostrado acima possam representar estruturas com similaridades a micelas, porém, informações dessa natureza não constam na literatura.

No entanto, tendo sido evidenciado que os EAG's podem formar uma fase constituída de agregados, possibilita a interação com moléculas de contaminantes como os HPA's presentes na composição do diesel, um tópico bastante relevante envolvendo a ocorrência desse fenômeno para as estruturas moleculares existentes na composição do biodiesel.

Uma possível abordagem que permite obter informações sobre as estruturas de agregados são os fatores geométricos da estrutura molecular da substância, ao passo que diferentes categorias são consideradas, destacadas na Fig. 5. Em resumo, representa um índice estrutural das micelas (P_c) dependente da razão do volume da

porção hidrofóbica da molécula (v) pelo produto entre a área do grupo polar (a) e o comprimento da cadeia alifática (l_c). A citar, por exemplo, o modelo padrão de estruturas micelares esféricas que condizem com valores de $P_c < 0,33$, característicos de tensoativos de estruturas mais simples, associadas com cadeias alifáticas singulares. No caso dos EEAG's, assumindo os valores de l_c e a discutidos anteriormente no texto e que o valor de v pode ser obtido através da expressão $v = 27,4 + 26,9n_c$, em que n_c representa o valor de C_n na porção hidrofóbica da molécula reduzido de um átomo de carbono (TANFORD, 1972; 1974), os valores calculados para P_c ocorrem na faixa entre 0,6-0,7. Pela classificação de P_c (MYERS, 2006), as estruturas que poderiam representar os EEAG's seriam vesículas (Figura 38).

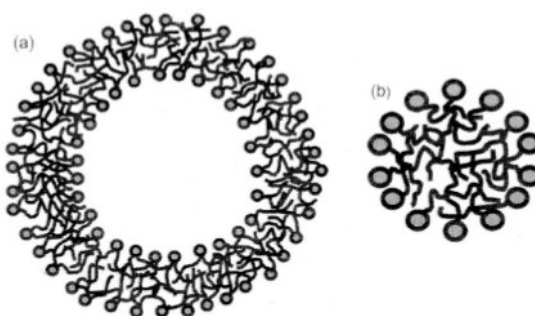


FIGURA 38 – Representação esquemática de um agregado estrutural formado por uma vesícula esférica bi-camada (a) comparada a uma típica estrutura micelar esférica (b), para soluções aquosas diluídas (Extraído de Nagarajan, 2011).

De forma bastante curiosa, essa classificação do tipo de agregado estrutural a partir do índice P_c , classificando os EAG's como vesículas coincidiu com o método de preparação de ambientes micelares para aplicações em química analítica, o qual consiste da presença de sonicação nas soluções de trabalho. De fato, os experimentos foram realizados a partir de banho de ultra-som, tam

bém empregado por Mogelson, Pieper e Lange (1984) no estudo da auto-agregação do OE. No entanto, apenas especula-se como os agregados evidenciados pelas medições de τ e I_1/I_3 podem ser caracterizados a partir da geometria da molécula.

4.3. SOLUBILIDADE AQUOSA DE HPA's (S_w)

4.3.1. HPA:água

Na Tabela 20 constam os resultados de S_w obtidos experimentalmente em sistemas de equilíbrio HPA:água, realizados individualmente (naftaleno, fenantreno, antraceno e pireno). A partir dos valores de S_w para HPA's retirados da literatura, recentemente revisados por Ma *et al.* (2010), obteve-se uma boa concordância dos dados experimentais com àqueles apresentados na Tabela 5, os quais também apresentaram um boa precisão analítica a partir das duplicatas analisadas ($RSD < 11\%$).

TABELA 20 – Solubilidade aquosa (em mg L^{-1} e μM) em sistemas de equilíbrio HPA:água para o naftaleno, fenantreno, antraceno e pireno no seu estado puro (S_w) e valores para a solubilidade sub-resfriada (S_{w-sub}), obtidos para um t_{eq} de 7 dias e $T = 20 \pm 2$ °C. Os valores de RSD (%) representam a reprodutibilidade entre as réplicas avaliadas.

HPA	S_w (mg L^{-1})	S_w (μM)	σ (\pm)	RSD (%)	S_{w-sub} (mg L^{-1}) ^a	S_{w-sub} (μM)
Naftaleno	28,3	220,8	2,72	9,6	113,0	881,0
Fenantreno	1,04	5,84	0,11	10,5	6,41	36,0
Antraceno	0,03	0,17	0,001	4,6	2,79	15,6
Pireno	0,12	0,59	0,007	5,9	2,42	11,9

Kaipper (2004) ao estudar o efeito co-solvência do etanol no comportamento da solubilidade aquosa de HPA's presentes na composição de óleo diesel, também avaliou o valor de S_w para sistemas HPA:água (1:40 m v^{-1}), neste caso para naftaleno, antraceno e pireno, para uma valor $T=25$ °C em diferentes tempos de equilíbrio (t_{eq}), entre 7-30 dias. Foi constatado para t_{eq} de 15 dias, o período de equilíbrio aceitável para determinação de S_w . Os valores médios obtidos foram $36,2 \text{ mg L}^{-1}$ (naftaleno), $0,06 \text{ mg L}^{-1}$ (antraceno) e $0,15 \text{ mg L}^{-1}$ (pireno), sendo relativamente superiores aos determinados neste estudo.

Entretanto, os valores de S_w se mostraram bastante consistentes para t_{eq} igual a 7 dias, possibilitando a realização dos demais experimentos de solubilidade a partir das condições experimentais estabelecidas nesta pesquisa, e também da utilização de S_w como valor referência para análise comparativa dos efeitos de EAG's na solubilidade aquosa de HPA's.

Além disso, na Tabela 20 constam também os valores de S_{w-sub} , calculados segundo a Eq. 16, a partir dos valores experimentais de S_w , dos respectivos pontos de fusão de cada HPA (P_f), Tabela 5, para um valor T de 20 °C.

4.3.1.1. Validação do método ELL

Conforme descrito anteriormente, o método de extração dos HPA's estudados a partir da fase aquosa (f_{aq}) dos experimentos de solubilidade em sistemas de equilíbrio de fases foi adaptado a partir de procedimento padrão estabelecido na literatura (US EPA, 1994).

Assim, são apresentados na sequência os resultados obtidos para os testes de recuperação dos HPA's (f_{aq}) através do método de extração líquido líquido (ELL) modificado e, conseqüentemente, aplicado na totalidade dos experimentos de solubilidade realizados neste estudo (Tabela 21).

TABELA 21 – Testes de recuperação para os HPA's naftaleno, fenantreno e 9,10-dihidroantraceno em meio aquoso, aplicando o método modificado de ELL.

HPA	C_t (mg L ⁻¹)	E (%)	σ (\pm)	RSD (%)	$E \pm 2\sigma$ (%)
Naftaleno	15	88,6	3,3	3,7	85,0-95,2
Fenantreno	0,9	104,3	5,7	5,5	92,9-115,7
9,10-dihidroantraceno	0,7	97,7	3,9	4,0	89,9-105,5

Em poucas palavras, notou-se uma boa concordância dos valores determinados experimentalmente. As análises realizadas em triplicata responderam precisamente (RSD<6%) e com exatidão, concordando com os valores da concentração teórica (C_t) e os percentuais de recuperação (E). No caso do Naph, devido à sua maior pressão de vapor (Tabela 5), conseqüentemente, um favorecimento do particionamento para a fase gasosa através da volatilização, pode ser representativo de perdas do soluto em questão. Muito embora, os resultados tenham apresentado uma reprodutibilidade satisfatória para extração de HPA's de baixo peso molecular. Apesar do HPA 9,10-dihidroantraceno não ter sido selecionado como um contaminante modelo empregado nos experimentos de solubilidade aquosa, o mesmo foi avaliado nos testes de recuperação por ser um HPA empregado em testes de validação de métodos de extração, visto que não classifica-se na lista dos 16 prioritários (Fig. 15).

4.3.2. HPA:OE:água

Os experimentos envolvendo a solubilidade aquosa (S_w) dos HPA's selecionados como modelo de contaminantes são apresentados na sequência para os sistemas HPA:OE:água. Esses foram avaliados como sendo uma função da concentração do OE (10^{-7} - 10^{-3} M) presente no sistema, possibilitando avaliar o comportamento de S_w para os HPAs adicionados em sistemas individuais, e em excesso a partir do seu estado puro a uma proporção HPA:água de 1:400 ($m v^{-1}$). A Figura 39 (a-d) reporta os resultados obtidos.

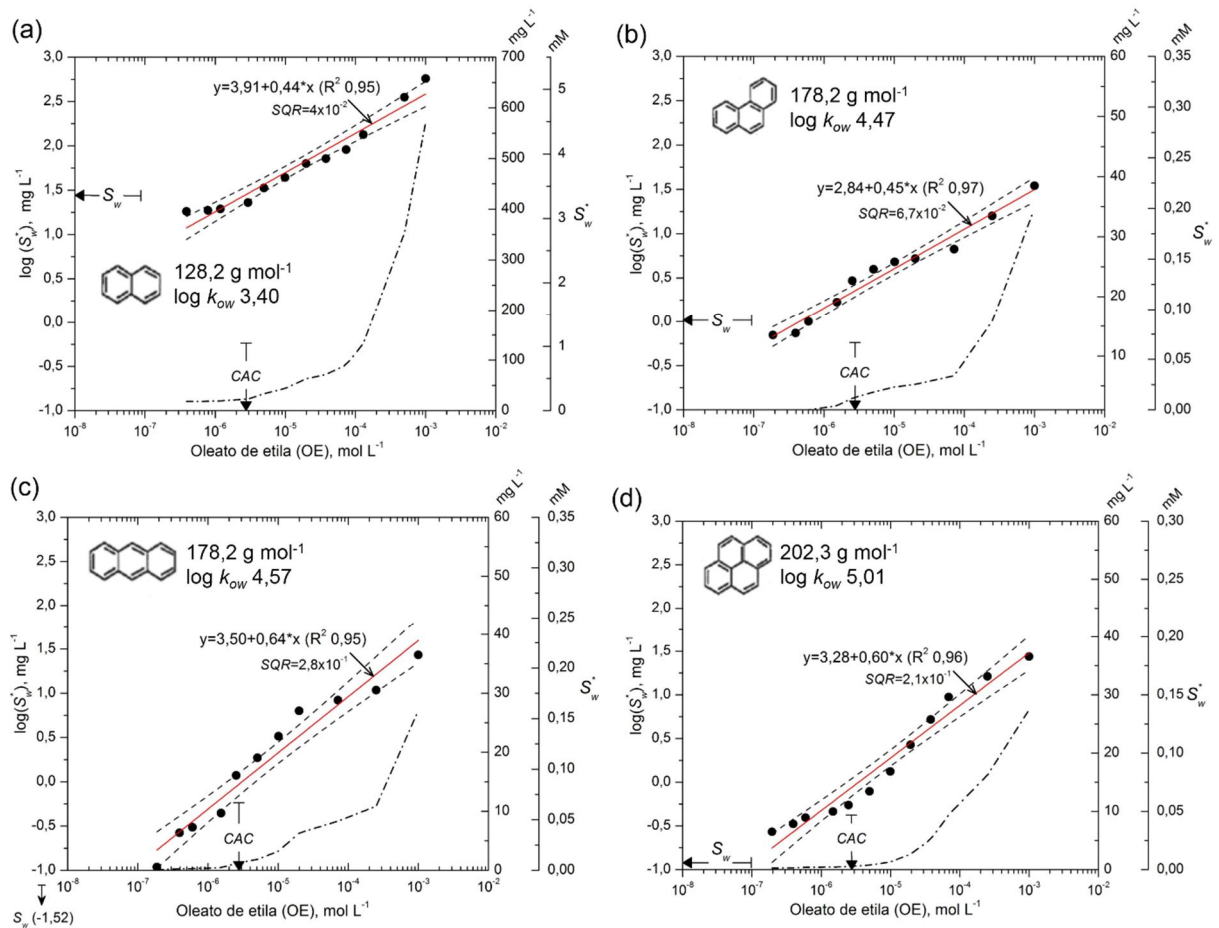


FIGURA 39 – Solubilidade aquosa aparente (S_w^*) do naftaleno (a), fenantreno (b), antraceno (c) e pireno (d) em função da concentração molar do oleato de etila, OE, (base log) em sistemas de equilíbrio de fases HPA:OE:água. No eixo-y (lado esquerdo) os valores de $\log(S_w^*)$ são correspondentes aos dados experimentais (\bullet), o ajuste a partir de regressão linear ($—$) e o intervalo de confiança a 95% ($\rho < 0,05$) para os dados amostrais ($----$). No eixo-y (lado direito) são reportados os valores de S_w^* sincronizado para as unidades de $mg L^{-1}$ e mM (linha traço-ponto).

A escolha do OE justifica-se pela disponibilidade prévia de dados na literatura que afirmaram a ocorrência de auto-agregação a partir de seus monômeros (MOGELSON; PIEPER; LANGE, 1984), também evidenciada e amplamente discutida neste estudo, juntamente aos demais EEAG's e amostras de biodiesel.

A presença de valores superiores a S_w é constatada a partir dos resultados obtidos; o termo S_w^* foi adotado para descrever a solubilidade aquosa aparente dos HPAs quantificados. É empregado em estudos que tem evidenciado os efeitos de agentes tensoativos em promover uma maior partição dos HPA's para o meio aquoso a partir de agregados relacionados com ambientes micelares e, conseqüentemente, associados aos efeitos de SM_i . (EDWARDS; LUTHY; LIU, 1991; GUHA; JAFFÉ; PETERS, 1998; MOHAMED; MAHFOODH, 2006; SALES; ROSSI; FERNÁNDEZ, 2011; MASRAT; MASWAL; DAR, 2013).

A ocorrência de agregados de EAG's como uma nova fase no sistema estudado (HPA:OE:água) resultou em um aumento substancial dos valores de S_w determinados a partir do equilíbrio HPA:água, o qual deve representar a capacidade máxima da solubilidade para as condições experimentais estabelecidas (Tabela 20), sendo também indicada a sua localização (S_w) na escala dos dados de $\log S_w^*$. Além disso, as figuras também apresentam a região aproximada para os valores de CAC determinados neste estudo, os quais foram iguais a $3,16 \mu\text{M}$ (τ) e $2,72 \mu\text{M}$ (I_1/I_3). Os valores de S_w^* em mg L^{-1} e mM também foram incorporados aos gráficos.

A análise de S_w^* a partir do $\log S_w^*$ possibilitou ajustar a distribuição dos dados ao modelo de regressão linear simples, resultando em valores de R^2 entre 0,95-0,97, muito embora representem, neste caso, a interpretação de dados a partir de experimentos simples, justificado pelo número de amostras a serem analisadas pela técnica de CG-DIC, impossibilitando avaliar a reprodutibilidade experimental (RSD).

No entanto, foi possível verificar que para maiores concentrações do OE em meio aquoso, uma maior solubilização foi evidenciada para os HPA's adicionados a partir do seu estado puro. Considerando a proporção HPA:água avaliada nestes experimentos, uma solubilidade máxima possível seria de 2500 mg L^{-1} . A partir dos resultados da Tabela 20, significa dizer que houve uma solubilização de 1,13%, 0,04%, 0,001% e 0,005% da massa de HPA adicionada no sistema, respectivamente, para o naftaleno, fenantreno, antraceno e pireno, permitindo atingir o valor de equilíbrio S_w no meio aquoso. Por outro lado, a presença de OE e o valor extremo de

maior S_w^* resultou em uma massa dissolvida de HPA igual a 23% (naftaleno), 1,4% (fenantreno) e 1,1% (antraceno e pireno).

Uma explicação bastante razoável deste comportamento relaciona a ocorrência de agregados de OE em meio aquoso, que possibilitaram um aumento na solubilidade dos HPA's na fase de agregados, a qual deve permanecer em equilíbrio com os monômeros de OE. Dessa forma, valores de $\log S_w^*$ passaram de sua condição de equilíbrio em meio aquoso (S_w) sendo igual a 1,45 (naftaleno), 0,02 (fenantreno), -1,52 (antraceno) e -0,92 (pireno), para ambientes com elevada concentração de HPA's, atingindo valores máximos de $\log S_w^*$ para a faixa de concentração de OE estudada (10^{-7} - 10^{-3} M) iguais a 2,76 (naftaleno), 1,54 (fenantreno), 1,43 (antraceno) e 1,44 (pireno). O perfil de S_w^* na presença de OE pode ser constatado pelo comportamento da linha (traço-ponto) nos gráficos, a qual permite demonstrar que na presença de agregados de OE (>CAC), um aumento substancial na solubilidade aquosa de HPAs foi alcançada atingindo valores de S_w^* máximo igual a 572,4 mg L⁻¹ (4,46 μM), 34,8 mg L⁻¹ (0,20 μM), 27,1 mg L⁻¹ (0,15 μM) e 27,5 mg L⁻¹ (0,14 μM), para o naftaleno, fenantreno, antraceno e pireno, respectivamente.

Comparativamente, Edwards, Luthy e Liu (1991) avaliaram pelo comportamento da SM_i , em presença de surfactantes não iônicos, que a solubilidade aquosa (S_w^*) do pireno e fenantreno nos sistemas estudados foi máxima para uma faixa entre 0,02-0,3 μM, que adicionado de resultados para outros COH's evidenciou uma correlação linear positiva de uma maior partição dos HPA's em ambientes micelares (K_m) com o aumento da hidrofobicidade (k_{ow}).

Resultados obtidos por Guha, Jaffé e Peters (1998) para S_w^* indicaram que a SM_i promovida pela presença de tensoativo não iônico (Triton X-100) permitiu uma maior solubilidade aquosa, próxima a valores de 150 mg L⁻¹ (~1,2 μM), 60 mg L⁻¹ (~0,34 μM) e 40 mg L⁻¹ (~0,20 μM) para experimentos individuais contendo naftaleno, fenantreno e pireno, respectivamente. Evidenciaram também que na presença de misturas binárias e ternárias dos HPA's estudados, o comportamento de S_w^* é alterado, evidenciando que os HPA's entre si apresentam efeitos interativos aumentando ou reduzindo S_w^* em função da concentração do tensoativo.

Este efeito relacionando a presença de diferentes HPA's também foi relatado por Masrat, Maswal e Dar (2013). Foi discutido que a competição existente entre os HPA's deve associar-se com a acomodação das moléculas em diferentes regiões do

fragmento hidrofóbico do tensoativo (micelas). No caso da solubilidade aquosa do naftaleno (S_w^*), foram observados valores máximos na faixa entre 0,5-1,4 mM.

Mohamed e Mahfoodh (2006) obtiveram resultados máximos de S_w^* do naftaleno e pireno na ordem de 3 mM e 1,2 mM, respectivamente, para misturas contendo diferentes frações molares (X) de um tensoativo iônico (SDS) e outro de natureza não iônica (Tween 80). Avaliados individualmente, os valores de S_w^* foram próximos a 0,6 mM e 2,4 mM para o naftaleno e de 0,4 mM e 0,8 mM para o pireno, respectivamente, nos surfactantes Tween 80 e SDS (lauril sulfato de sódio).

Algumas similaridades envolvendo estudos de SM_i de HPA's em meio aquoso como os destacados acima, para diferentes sistemas promotores da formação de ambientes micelares, consistem da resposta linear crescente de S_w^* função da concentração do tensoativo ou mistura desses observada e associadas com os valores de CMC (a partir da qual SM_i é favorecida), e o emprego de substâncias anfifílicas altamente solúveis no meio aquoso (alto BHL), relacionando, portanto, os efeitos observados no aumento de S_w^* , caracteristicamente, atribuídos a uma incorporação ou a um particionamento dos solutos orgânicos (HPA's) nas estruturas micelares, assumindo também que a contribuição devido à presença dos monômeros em equilíbrio com as micelas é negligenciado.

Dessa forma, levando em consideração as propriedades de EAG's como o OE, exemplo da notória limitação da sua solubilidade aquosa e que, por outro lado, apresenta uma capacidade de formar estruturas de agregados monoméricos, também evidenciado para outros ésteres, não devem ser esperados ambientes micelares. No entanto, uma organização entre moléculas de OE que em meio aquoso representam um fase potencial em dissolver os HPA's promovendo valores de S_w que podem ocorrer entre 1-3 ordens de grandeza acima do observado em sistemas de equilíbrio de fases HPA:água, em faixas similares ou até mesmo superiores àquelas observadas em sistemas contendo agentes tensoativos.

No caso dos surfactantes atuarem como agentes solubilizantes, Rao e Paria (2009) destacam que as propriedades de agregação de micelas como N_{ag} desempenham um papel fundamental na solubilização. Em outras palavras, uma menor capacidade de agregação micelar (número de moléculas por unidade micelar) resulta em uma menor capacidade de solubilização. No entanto, menores valores de N_{ag} podem apresentar um comportamento distinto para tensoativos com menores valores de CMC (um maior número de micelas possibilita maior eficiência na

solubilização). Essa abordagem foi evidenciada pelos autores ao comparar a SM_i do naftaleno entre um surfactante natural de origem vegetal ($<N_{ag}$) com surfactantes sintéticos extensivamente empregados em estudos dessa natureza.

No caso do OE, não é possível concluir a partir dos dados obtidos se o aumento nos valores de S_w é uma consequência da presença de ambientes micelares, uma vez que considerou-se o emprego do termo CAC, permitindo não comprometer os resultados com características similares à de surfactantes, uma vez que essas informações ainda são incipientes. No entanto, cabe destacar que pelos baixos valores de CAC, uma interpretação similar quanto à intensidade na formação de agregados faz-se útil para compreender o sistema estudado.

A Figura 40 abaixo permitiu analisar o comportamento de S_w^* em função da concentração do OE em meio aquoso e na presença de seus agregados ($EEAG_{ag}$), relacionado-se ao valor obtido experimentalmente neste estudo para S_w .

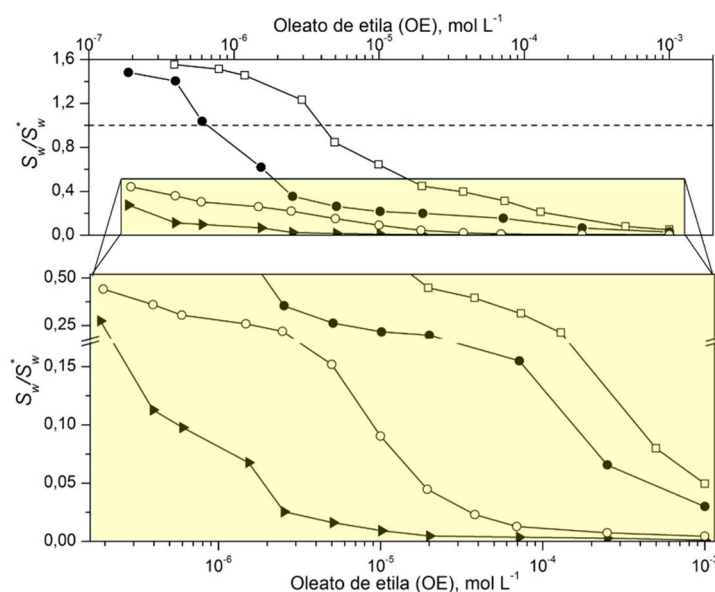


FIGURA 40 – Comportamento da razão S_w/S_w^* para o naftaleno (\square), fenantreno (\bullet), antraceno (\blacktriangleright) e pireno (\circ) em função da concentração molar do oleato de etila, OE, (base log) em sistemas de equilíbrio de fases HPA:OE:água. A área delimitada no gráfico superior foi ampliada para melhor visualização. A linha tracejada no gráfico superior representa $S_w=S_w^*$.

A razão S_w/S_w^* demonstrou uma tendência de aumento significativo na solubilidade aquosa de HPA's, sendo favorecida para compostos de maior MM e reduzida S_w . A partir do comportamento do antraceno e pireno ($S_w/S_w^* < 1$), foi verificado $S_w^* > 2S_w$ mesmo antes dos limites de CAC mostrados no gráfico, sendo rapidamente reduzida para o antraceno ainda na faixa de concentração do OE

associada a CAC ($\sim 10^{-6}$ M), e mais intensificada a solubilização do pireno a partir de concentrações $>10^{-5}$ M. No caso do naftaleno e fenantreno, alguns resultados forneceram valores da razão $S_w/S_w^* > 1$, indicando não ter havido um favorecimento na solubilidade quando menores concentrações de OE estavam presentes no meio, inclusive $<CAC$ a partir dos dados obtidos neste estudo e da literatura (MOGELSON; PIEPER; LANGE, 1984).

De fato, os experimentos de solubilidade foram realizados nas mesmas condições para os sistemas HPA:água e HPA:OE:água (200 rpm, $T 20 \pm 2$ °C, t_{eq} 7 dias, filtração, ELL). Ainda, efeitos do pH do meio não devem ter influenciado os resultados, uma vez que a presença do OE não promoveu mudanças significativas nas condições de neutralidade do pH do meio, após t_{eq} (pH $7,30 \pm 0,3$). Em meio aquoso uma solução 0,05% ($v v^{-1}$) de OE apresentou valor de pH igual a 7,48.

O comportamento observado para o antraceno e pireno indicou que ainda na presença somente de monômeros do OE, um aumento na solubilidade aquosa foi favorecida, inclusive para concentrações de OE inferior as duas faixas de CAC mostradas na Figura 40.

Cabe destacar que o antraceno é isômero do fenantreno, porém com S_w sendo duas ordens de grandeza inferior. De fato, espera-se que HPA's mais hidrofóbicos apresentem um maior efeito no aumento da sua solubilidade, porém, a relação desses solutos com as fases representativas de monômeros e agregados ainda não é totalmente elucidada para os sistemas avaliados. Além disso, os dados limitarem-se a uma única determinação, ainda que indicativa da potencial solubilização de HPAs em presença de OE necessitam de futuras investigações também envolvendo demais EEAGs.

A partir dos máximos valores de S_w^* obtidos para cada HPA (Figura 39), obteve-se um ajuste exponencial bastante representativo ($R^2 0,99$) da influência dos valores de S_w na solubilidade dos HPA's na presença de OE. Foi possível verificar que para S_w , ou seja, antraceno $<$ pireno $<$ fenantreno $<$ naftaleno, um fator de solubilização obtido a partir da razão entre S_w^* máximo (maior concentração do OE) e S_w permitiu demonstrar que houve uma preferência pela solubilidade de HPAs de S_w reduzida, variando entre o antraceno ($0,03 \text{ mg L}^{-1}$) e o naftaleno ($28,3 \text{ mg L}^{-1}$), duas ordens de grandeza (Figura 41). Por outro lado, o mesmo comportamento não foi observado para a hidrofobicidade dos HPA's que segue para maiores valores de $\log k_{ow}$, a sequência naftaleno $<$ fenantreno $<$ antraceno $<$ pireno.

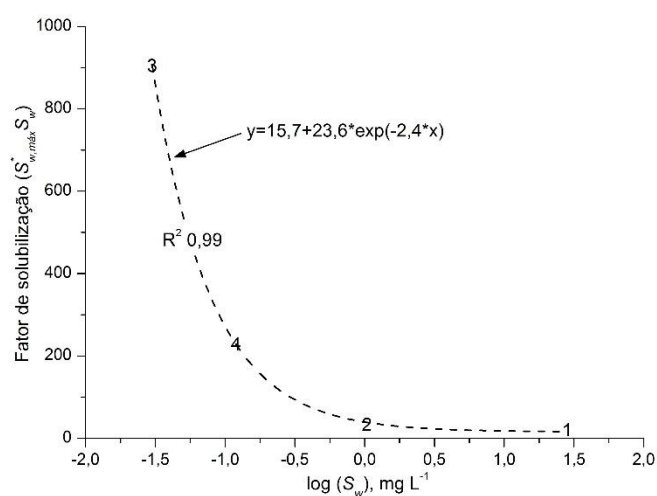


FIGURA 41 – Ajuste exponencial do fator de solubilização $S_{w,máx}^*/S_w$ em função do $\log S_w$ a partir dos resultados obtidos em sistemas de equilíbrio de fases HPA:OE:água. Os números representam naftaleno (1), fenantreno (2), antraceno (3) e pireno (4).

No caso de estudos em que a SM_i é de longe o principal fator associado com a maior solubilidade aquosa de HPA's no meio aquoso, um parâmetro comumente empregado por diversos autores é o *RMS*, que permite obter uma medida da eficácia dos tensoativos em solubilizar COH's no meio aquoso (EDWARDS; LUTHY; LIU, 1991). A Eq. 5 descreve as variáveis relacionadas para o cálculo de *RMS*.

Entretanto, esse valor pode ser extraído diretamente do ajuste linear obtido entre os dados de S_w^* plotados em função da concentração do tensoativo, a partir da inclinação da reta $y=a+b \cdot x$, sendo, portanto, $b=RMS$.

Considerando o ajuste linear obtido a partir do $\log S_w$ para este estudo, foram verificados valores para a inclinação da reta iguais a 0,44 (naftaleno), 0,45 (fenantreno), 0,64 (antraceno) e 0,60 (pireno). É importante destacar que os valores foram obtidos a partir do ajuste linear considerando o $\log S_w^*$ e os dados de concentração em base log (Figura 39), demonstrando que o mesmo comportamento linear avaliado nos estudos com surfactantes não foi observado para o caso do OE.

Assumindo que a inclinação da reta (*slope*) possa indicar a eficiência dos agregados de OE em promoverem uma maior solubilização de HPA's, foi verificado que os mesmos são predominantemente superiores aos valores de *RMS* disponíveis na literatura, considerando diferentes sistemas de surfactantes (simples e misturas), relacionados com a SM_i de HPA's no meio aquoso (Tabela 22).

TABELA 22 – Análise comparativa dos valores de RMS e $\log K_m$ avaliados em diferentes sistemas de surfactantes com prováveis valores associados ao comportamento dos agregados de OE na solubilização aquosa dos HPA's estudados (RMS_{ag} ; $\log K_{ag}$).

Contaminante	RMS	$\log K_m$	Referência
Naftaleno	2×10^{-3} - $3,1 \times 10^{-1}$	2,86-4,94	RAO; PARIA (2009)
	$9,8 \times 10^{-2}$ - $4,2 \times 10^{-1}$	4,32-4,82	MASRAT; MASWAL; DAR (2013)
	$2,1 \times 10^{-1}$ - $2,3 \times 10^{-1}$	4,04-4,77	SALES; ROSSI; FERNÁNDEZ (2011)
	$5,5 \times 10^{-1}$	5,00	ZHOU <i>et al.</i> (2011)
	$3,2 \times 10^{-1}$ - $3,7 \times 10^{-1}$	4,57-4,64	EDWARDS; LUTHY; LIU (1991)
	$6,5 \times 10^{-2}$ - $3,0 \times 10^{-1}$	4,12-4,71	MOHAMED; MAHFOODH (2006)
Fenantreno	$8,9 \times 10^{-2}$ - $2,4 \times 10^{-1}$	5,61-5,98	LI; CHEN (2002)
	$9,4 \times 10^{-2}$ - $1,8 \times 10^{-1}$	5,03-6,27	SALES; ROSSI; FERNÁNDEZ (2011)
	$6,1 \times 10^{-1}$	6,50	ZHOU <i>et al.</i> (2011)
	$1,0 \times 10^{-1}$ - $1,6 \times 10^{-1}$	5,57-5,72	EDWARDS; LUTHY; LIU (1991)
Pireno	$3,2 \times 10^{-2}$ - $1,1 \times 10^{-1}$	6,42-6,91	MASRAT; MASWAL; DAR (2013)
	$3,6 \times 10^{-1}$	7,34	ZHOU <i>et al.</i> (2011)
	$3,5 \times 10^{-2}$ - $7,2 \times 10^{-2}$	6,01-6,53	EDWARDS; LUTHY; LIU (1991)
Contaminante	RMS_{ag}	$\log K_{ag}$	Referência
Naftaleno	$4,4 \times 10^{-1}$	4,88	Este estudo
Fenantreno	$4,5 \times 10^{-1}$	6,15	
Antraceno	$6,4 \times 10^{-1}$	6,65	
Pireno	$6,0 \times 10^{-1}$	6,68	

Para os dados obtidos neste estudo, adotou-se a sigla RMS_{ag} . Muito embora esse tipo de interpretação não encontra-se disponível na literatura para EAG's como o oleato de etila (OE), bem como estudos que relacionem o comportamento dos HPA's em meio aquoso na presença de fases correspondentes a agregados de EAG's, esse tipo de abordagem indicou que, provavelmente, a mesma análise dos resultados envolvendo experimentos na presença de tensoativos possa ser utilizada para estudar a capacidade do OE, importante constituinte de amostras de biodiesel, em solubilizar HPAs no meio aquoso. Esses por sua vez representam a composição multicomponente do óleo diesel, diretamente associados com eventos de contaminação subsuperficial.

Assim como a interpretação dos resultados para RMS_{ag} a partir da Figura 39, também é possível avaliar um provável coeficiente de partição entre o meio aquoso e a fase de agregados do OE (K_{ag}), seguindo o modelo de equação para ambientes micelares (Eq. 7). Foram considerados os valores de RMS_{ag} discutidos previamente no texto. O valor de S_{CAC} para o OE foi adotado como sendo a solubilidade aquosa dos HPA's na CAC determinada a partir do índice de polaridade do pireno, igual a 2,72 μM . Pelo gráfico, para substituição do valor na equação da reta correspondente, esse

valor foi transformado para unidade logarítmica a partir do valor em mol L⁻¹ (-5,57). Os valores obtidos para S_{CAC} foram iguais a 28,8 mg L⁻¹ (naftaleno), 2,16 mg L⁻¹ (fenantreno), 0,86 mg L⁻¹ (antraceno) e 0,87 mg L⁻¹ (pireno). Comparando esses valores com a S_w (Tabela 20) nota-se uma boa proximidade para o naftaleno. Por outro lado, os outros HPAs representam na CAC (I_1/I_3) valores de S_w^* proporcionais e aproximados a $2,1S_w$, $28,7S_w$ e $7,3S_w$, respectivamente para o fenantreno, antraceno e pireno.

Assim, foi possível obter um provável valor de K_{ag} , também mostrado na Tabela 22, comparativamente aos demais estudos realizados na presença de ambientes micelares. Pelos valores retirados da literatura e levando em consideração que os estudos compreendem diferentes condições experimentais, técnicas analíticas de quantificação, precisão e exatidão dos resultados, é perceptível que os valores de $\log K_m$ apresentam algumas variações entre os dados observados para um mesmo HPA. Isto segue uma relação com o aumento da hidrofobicidade dos HPA's (naftaleno>fenantreno>pireno), indicando que compostos com maior valor de $\log k_{ow}$ devem experimentar um maior efeito da SM_i .

Os valores calculados para os HPA's a partir dos sistemas HPA:OE:água indicaram valores concordantes de $\log K_{ag}$, ao considerar K_{ag} como sendo a razão entre a fração molar do HPA na fase de agregados ($X_{ag,HPA}$) e na fase aquosa constituída predominantemente por monômeros do OE ($X_{am,HPA}$), similar a Eq. 6.

Uma possível abordagem envolvendo a partição dos HPA's entre a fase aquosa e fase constituídas por agregados de OE seria o comportamento de K_{ag} com a hidrofobicidade dos solutos estudados ($\log k_{ow}$).

Segundo Linkow *et al.* (2005), o coeficiente k_{ow} é amplamente utilizado em estudos de avaliação de risco com o propósito de aproximar a distribuição de substâncias químicas entre f_{aq} e f_{org} , a citar as águas subterrâneas e fases não aquosas (NAPL).

Para compostos de uma mesma classe contendo grupos funcionais semelhantes, como os HPA's, o emprego do $\log k_{ow}$ torna-se um método capaz de prever propriedades para o grupo todo, partindo-se de um número limitado de medições experimentais.

A partir dessas considerações, os valores obtidos para $\log K_{ag}$ foram correlacionados com os respectivos valores de $\log k_{ow}$ (Tabela 4) para os HPA's estudados. Os resultados são mostrados na Figura 42.

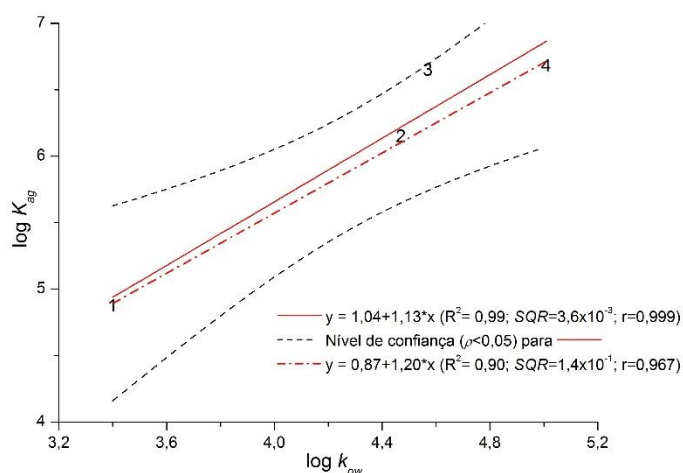


FIGURA 42 – Correlação entre $\log k_{ow}$ e $\log K_{ag}$ entre os HPA's naftaleno (1), fenantreno (2), antraceno (3) e pireno (4), a partir dos resultados obtidos nos sistemas de equilíbrio de fases HPA:OE:água. Note que as linhas de cor vermelha em diferentes estilos representam o ajuste linear relacionando os pontos 1, 2 e 4 (sólida) e 1-4 (traço-ponto). O nível de confiança ($\rho < 0,05$) para a linha sólida também é apresentado (---).

Foi verificada uma correlação linear muito significativa entre $\log K_{ag}$ e $\log k_{ow}$ ($R^2 = 0,99$; $\rho = 0,999$) ao considerar os dados obtidos para o naftaleno, fenantreno e pireno. Nota-se que para esta correlação, o antraceno esteve contido no intervalo de confiança adotado ($\rho < 0,05$). Considerando os quatro HPA's, uma redução no valor de R^2 para 0,90 foi verificada, porém, ainda com uma correlação linear muito forte ($r = 0,967$, $\rho < 0,05$).

Com isso, é possível inferir que a fase de agregados formada pela auto-agregação de monômeros de OE promove um aumento na solubilidade de HPA's segundo a hidrofobicidade, avaliado pela relação $\log K_{ag}$ vs. $\log k_{ow}$.

4.3.3. HPA:biodiesel:água

Os resultados da solubilidade aquosa (S_w) dos HPA's nos sistemas de equilíbrio de fases HPA:biodiesel:água, na presença de diferentes frações volumétricas (f) de biodiesel metílico (BM1) ou etílico (BE2), preparados em laboratório a partir do óleo de soja refinado, são mostrados na sequência para o naftaleno, fenantreno, pireno e antraceno (Figuras 43 a 46). De forma análoga aos gráficos dos resultados de S_w^* para os sistemas HPA:OE:água, os resultados foram plotados a partir do $\log S_w^*$, podendo ser verificado também o comportamento de S_w^* a partir dos valores em mg L^{-1} e mM.

Pelas figuras, foi possível verificar que os dados não apresentaram um comportamento linear de S_w^* para toda a faixa de f estudada (5×10^{-4} - 10^{-2}).

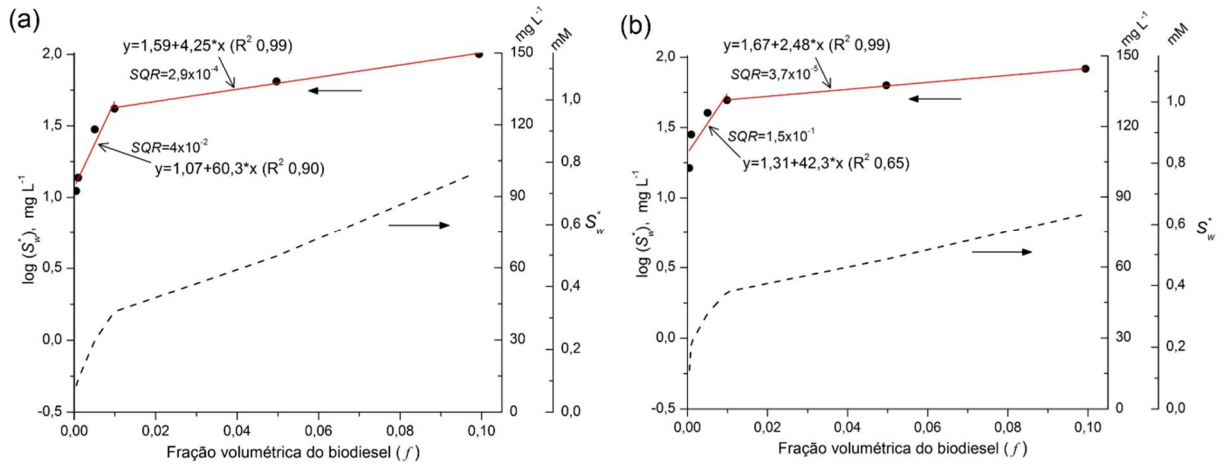


FIGURA 43 – Solubilidade aquosa aparente (S_w^*) do naftaleno em função da fração volumétrica (f) de biodiesel metílico, BM1, (a) e etílico, BE2, (b) adicionado em sistemas de equilíbrio de fases HPA:biodiesel:água. No eixo-y (lado esquerdo) os valores de $\log(S_w^*)$ são correspondentes aos dados experimentais (●) e o ajuste a partir de regressão linear (—). No eixo-y (lado direito) são reportados os valores de S_w^* sincronizado para as unidades de mg L^{-1} e mM (---). Os ajustes lineares representam f_1 (0,05-1% v v^{-1}) e f_2 (1-10% v v^{-1}).

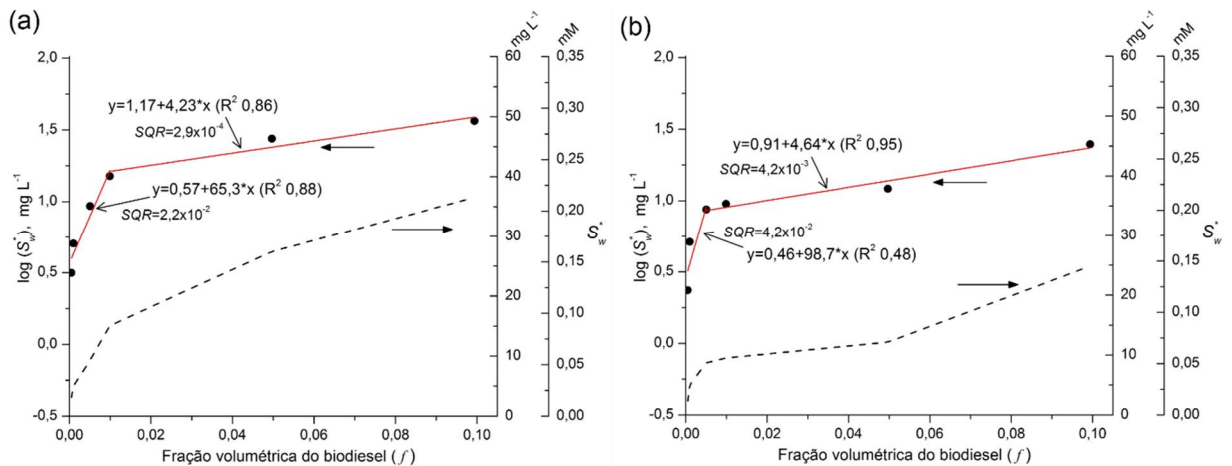


FIGURA 44 – Solubilidade aquosa aparente (S_w^*) do fenantreno em função da fração volumétrica (f) de biodiesel metílico, BM1, (a) e etílico, BE2, (b) adicionado em sistemas de equilíbrio de fases HPA:biodiesel:água. No eixo-y (lado esquerdo) os valores de $\log(S_w^*)$ são correspondentes aos dados experimentais (●) e o ajuste a partir de regressão linear (—). No eixo-y (lado direito) são reportados os valores de S_w^* sincronizado para as unidades de mg L^{-1} e mM (---). Os ajustes lineares representam f_1 (0,05-1% v v^{-1}) e f_2 (1-10% v v^{-1}).

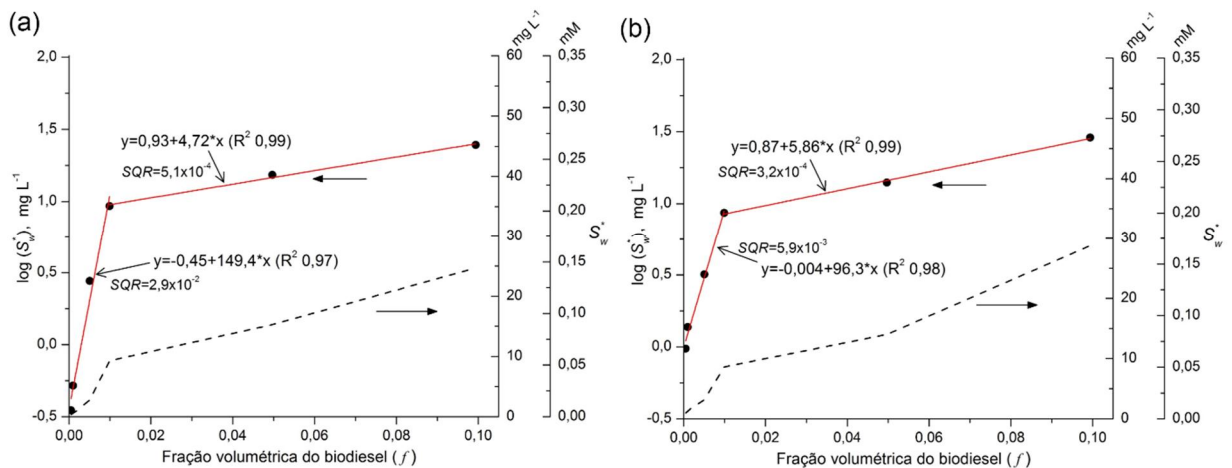


FIGURA 45 – Solubilidade aquosa aparente (S_w^*) do antraceno em função da fração volumétrica (f) de biodiesel metílico, BM1, (a) e etílico, BE2, (b) adicionado em sistemas de equilíbrio de fases HPA:biodiesel:água. No eixo-y (lado esquerdo) os valores de $\log(S_w^*)$ são correspondentes aos dados experimentais (●) e o ajuste a partir de regressão linear (—). No eixo-y (lado direito) são reportados os valores de S_w^* sincronizado para as unidades de mg L^{-1} e mM (---). Os ajustes lineares representam f_1 (0,05-1% v v⁻¹) e f_2 (1-10% v v⁻¹).

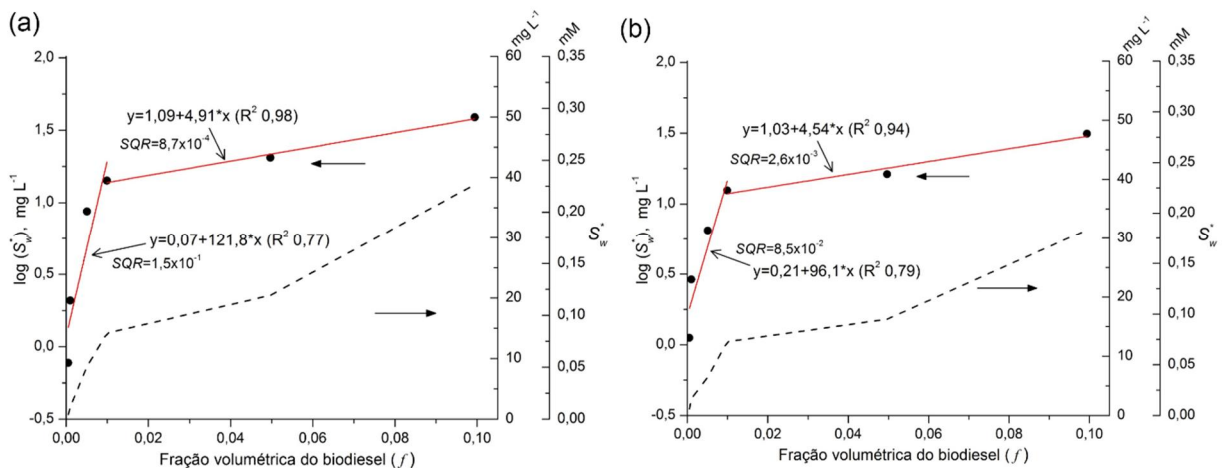


FIGURA 46 - Solubilidade aquosa aparente (S_w^*) do pireno em função da fração volumétrica (f) de biodiesel metílico, BM1, (a) e etílico, BE2, (b) adicionado em sistemas de equilíbrio de fases HPA:biodiesel:água. No eixo-y (lado esquerdo) os valores de $\log(S_w^*)$ são correspondentes aos dados experimentais (●) e o ajuste a partir de regressão linear (—). No eixo-y (lado direito) são reportados os valores de S_w^* sincronizado para as unidades de mg L^{-1} e mM (---). Os ajustes lineares representam f_1 (0,05-1% v v⁻¹) e f_2 (1-10% v v⁻¹).

Em relação aos sistemas HPA:OE:água, algumas diferenças para os experimentos envolvendo a presença de biodiesel em equilíbrio de fase com o meio aquoso devem ser ressaltadas. Diferente do OE, previamente preparado através de sonicação das soluções aquosas, os experimentos contendo biodiesel foram diretamente adicionados de diferentes volumes de BM ou BE na proporção volumétrica desejada (f). Além disso, foram avaliados a partir de uma mistura dos

HPAs, embora a solubilidade máxima em água para cada HPA foi mantida a mesma, ou seja, 2500 mg L^{-1} ($1:400 \text{ m}^3 \text{ HPA:água}$), indicando um excesso de HPA no sistema. O tempo de equilíbrio (t_{eq}) foi somente de 24 h, sendo mantidas as mesmas condições de temperatura e agitação do sistema.

Como hipótese inicial para análise dos resultados, destaca-se que os valores obtidos para CAC a partir das amostras de biodiesel (BM1 e BE2), permitiram indicar que, havendo a presença de agregados, estes devem ocorrer em uma concentração inferior a $10^{-2} \% \text{ v v}^{-1}$ ou f igual a 10^{-4} . Ou seja, relacionando uma provável formação de uma fase mista de agregados a partir da composição de EMAG's ou EEAG's constituintes do biodiesel, evidenciado pela primeira vez neste estudo ao serem discutidos os dados de medição para τ e I_1/I_3 .

Constatou-se que a adição de biodiesel favoreceu uma significativa solubilização dos HPA's em meio aquoso a partir das misturas contendo igual quantidade de massa. Os valores de S_w^* atingiram valor máximo com o aumento na fração volumétrica de biodiesel no meio aquoso. No caso do naftaleno (Figura 43), esses valores foram de $100,5 \text{ mg L}^{-1}$ (0,78 mM) e $82,7 \text{ mg L}^{-1}$ (0,65 mM) nas amostras BM1 e BE2, enquanto os resultados para o fenantreno (Figura 44) indicaram que S_w^* atingiu valores de $36,6 \text{ mg L}^{-1}$ (0,20 mM) e $24,8 \text{ mg L}^{-1}$ (0,14 mM) também na presença das respectivas amostras de biodiesel. Os resultados para o antraceno (Figura 45) e pireno (Figura 46) demonstraram que esses HPA's foram solubilizados até valores iguais a $24,7 \text{ mg L}^{-1}$ (0,14 mM) e $38,9 \text{ mg L}^{-1}$ (0,19 mM) para BM1, sendo bastante similar para a amostra BE2, com valores de S_w^* de $28,8 \text{ mg L}^{-1}$ (0,16 mM) e $31,4 \text{ mg L}^{-1}$ (0,16 mM).

Um comportamento a ser destacado foi a proximidade dos valores de S_w^* do fenantreno, antraceno e pireno, indicando que não ocorreu, provavelmente, efeitos significativos de redução da solubilização entre esses HPA's, a partir das frações volumétricas definidas para o biodiesel. Inclusive, os valores máximos de S_w^* coincidiram com os resultados obtidos para os sistemas contendo OE, porém, para t_{eq} diferentes (OE: 7 dias; biodiesel: 24h). Por outro lado uma redução de S_w^* para o naftaleno foi notada, comparando os resultados obtidos para o OE.

Uma atenção especial foi requerida na etapa experimental que consistiu da retirada de uma alíquota da fase aquosa para posterior ELL. Isso porque após t_{eq} , as amostras foram mantidas em repouso para separação de f_{org} , nesse caso correspondente ao biodiesel. Durante a agitação dos experimentos (*slow-stirring method*), a fração volumétrica de biodiesel demonstrou interação desejável com a fase

aquosa e, conseqüentemente, promoveu a solubilização de HPA's. Porém, o biodiesel ainda evidenciou remascentes da fração orgânica adicionada nos experimentos como uma fase separada do sistema, a qual foi removida, inclusive com remoção conjunta de parte da fase aquosa, permitindo assumir que a amostra empregada para continuação das análises foi constituída somente por água, HPA's solubilizados no sistema e a presença de EAGs (solução monomérica e agregados mistos).

Nas Tabelas 23 e 24 são mostrados os valores absolutos obtidos para S_w^* dos HPA's avaliados a partir das condições experimentais na presença de diferentes frações volumétricas de biodiesel.

TABELA 23 – Valores de S_w^* para os sistemas HPA:biodiesel:água a partir da amostra BM1 para o naftaleno, fenantreno, antraceno e pireno.

% do biodiesel (v v ⁻¹)	Naftaleno (mg L ⁻¹)	Fenantreno (mg L ⁻¹)	Antraceno (mg L ⁻¹)	Pireno (mg L ⁻¹)
0	28,3	1,04	0,03	0,12
0,05	11,1	3,15	0,35	0,77
0,1	13,7	5,06	0,52	2,09
0,5	29,8	9,30	2,77	8,68
1	41,8	15,1	9,29	14,2
5	64,7	27,4	15,3	20,4
10	100,5	36,6	24,7	38,8

TABELA 24 – Valores de S_w^* para os sistemas HPA:biodiesel:água a partir da amostra BE2 para o naftaleno, fenantreno, antraceno e pireno

% do biodiesel (v v ⁻¹)	Naftaleno (mg L ⁻¹)	Fenantreno (mg L ⁻¹)	Antraceno (mg L ⁻¹)	Pireno (mg L ⁻¹)
0	28,3	1,04	0,03	0,12
0,05	16,3	2,35	0,97	1,12
0,1	28,2	5,13	1,37	2,89
0,5	40,3	8,70	3,19	6,48
1	49,5	9,51	8,63	12,5
5	63,3	12,2	14,0	16,3
10	82,7	24,8	28,8	31,4

Na Tabela 25 é possível verificar, em relação ao comportamento observado nas figuras anteriores (Figuras 43 a 46), a faixa para os valores de S_w^* a partir de nS_w , para n igual a S_w^*/S_w . O mesmo comportamento dos sistemas HPA:OE:água quanto ao decaimento exponencial de $S_{w,máx}^*/S_w$ como uma função da máxima solubilidade aquosa para cada HPA no equilíbrio HPA:água (S_w), foi notado para os resultados relacionados com as amostras BM1 e BE2 (HPA:biodiesel:água). Foi observado também que para t_{eq} de 24h, a massa de HPA dissolvida nos sistemas aquosos em presença de biodiesel apresentou valores máximos de 4,02% (naftaleno), 1,46%

(fenantreno), 0,99% (antraceno) e 1,60% (pireno) a partir de BM1, enquanto para os experimentos com a amostra BE2 esses valores foram iguais a 3,31% (naftaleno), 0,99% (fenantreno), 1,15% (antraceno) e 1,26% (pireno). Esses valores são bastante representativos da capacidade de solubilização dos agregados associados à composição mista de EAGs do biodiesel (BM1 e BE2).

TABELA 25 – Valores de S_w^* função de nS_w e percentual de HPA solubilizado a partir da quantidade máxima adicionada nos sistemas (1:400 m v⁻¹).

HPA	$S_w^*=nS_w$		HPA solubilizado (%)	
	BM1	BE2	BM1	BE2
Naftaleno	0,4 S_w -3,6 S_w	0,6 S_w -2,9 S_w	0,44-4,02	0,65-3,31
Fenantreno	3,0 S_w -35,1 S_w	2,3 S_w -23,9 S_w	0,13-1,46	0,09-0,99
Antraceno	11,7 S_w -822,8 S_w	32,4 S_w -958,9 S_w	0,01-0,99	0,04-1,15
Pireno	6,4 S_w -323,7 S_w	9,3 S_w -262,0 S_w	0,03-1,60	0,04-1,26

A presença potencial de agregados formados a partir dos EAG's, com o aumento da fração volumétrica de biodiesel (5×10^{-4} - 10^{-2}), levaram a uma significativa influência no equilíbrio dos HPA's sobre a sua solubilidade. A partir dos dados plotados para $\log S_w^*$ foi possível verificar que um comportamento distinto entre duas diferentes faixas de f pode ser analisado. A primeira faixa correspondeu a pequenas proporções volumétricas ($v v^{-1}$), entre 0,05-1% (f_1), enquanto a segunda faixa (f_2) representou maiores percentuais de biodiesel no sistema (1-10%), A partir do $\log S_w^*$, foi possível ajustar os dados linearmente através de dois sub-conjuntos de dados, representantes de f_1 e também de f_2 .

Esse comportamento do biodiesel potencializou a solubilidade aquosa de HPAs avaliados neste estudo a partir do seu estado puro, tendo sido realizado sem precedentes na literatura o que representa um resultado de grande relevância. Apesar de escassa a literatura sobre o assunto, vale frisar a importância dos tipos de interações entre moléculas de EAG's que, em meio aquoso, por exemplo, possibilitam interações intermoleculares com a água a partir de sua porção polar, além da presença da fase de agregados.

Considerando que o comportamento de S_w^* não apresentou diferenças significativas no tipo de biodiesel empregado (BM ou BE a partir do óleo de soja) a partir da análise dos dados, a Figura 47 ilustra a correlação observada, indicando correlações lineares bastante aceitáveis ($r > 0,940$, $\rho < 0,05$),

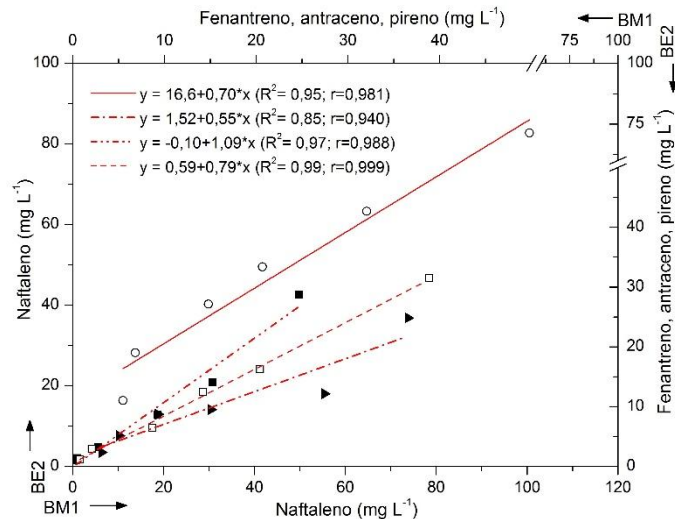


FIGURA 47 – Correlação linear entre os valores de S_w^* para o naftaleno (\circ), fenantreno (\blacktriangleright), antraceno (\blacksquare) e pireno (\square), observados nos experimentos contendo amostra de biodiesel BM1 vs. BE2.

A partir da hipótese dessa pesquisa, foi considerado que o biodiesel poderia ocasionar um aumento nos valores de S_w para COH's, como os HPA's estudados, e um provável efeito seria a sua atividade co-solvência. Na sequência, algumas considerações são levantadas sobre a existência ou não do efeito co-solvência que relacione a presença de agregados de EAG's no meio aquoso.

Primeiramente, os EAG's são reconhecidos como potenciais co-solventes que permitem promover uma estabilidade em misturas envolvendo diesel/álcool. Isso ocorre devido à possibilidade de associações a partir de ligações de hidrogênio entre a extremidade polar do co-solvente (neste caso o éster) com as moléculas fortemente polares de etanol e, simultaneamente, estabelece interações intermoleculares com os hidrocarbonetos do diesel a partir do seu fragmento hidrofóbico e atraídos por forças de Van der Waals (moléculas de baixa polaridade).

Assim como o álcool, as ligações de hidrogênio podem também associar a água com a extremidade do éster a partir do oxigênio na ligação C=O (Figura 3). Isso pode configurar uma relação potencial no que se refere as interações dos agregados de EAG's no meio aquoso (REYES *et al.*, 2009).

Em estudos que tem como objetivo avaliar o efeito potencial que um co-solvente pode apresentar sobre a solubilidade aquosa relacionando um ou mais COH's, um modelo bastante consolidado é o modelo log-linear:

$$\log S_{c,i} = \log S_{w,i} + \sigma f \quad (\text{Eq. 23})$$

Em que $S_{c,i}$ e $S_{w,i}$ são a solubilidade do soluto i na mistura água/co-solvente e na sua forma pura, respectivamente, f a fração volumétrica do co-solvente no sistema e σ um parâmetro que permite medir a energia de co-solvência (LI; YALKOWSKY, 1998). Um efeito bastante pronunciado da atividade de co-solvência do etanol é reportado para HPAs, demonstrando resultados bastante satisfatórios quanto ao emprego do modelo (CORSEUIL; KAIPPER; FERNANDES, 2004).

Basicamente, esse modelo apresenta-se como $\log y = \log b + a \cdot x$. Em geral, devem representar substâncias que interagem fortemente com solventes polares, exemplo da miscibilidade do etanol. Cabe destacar que os EAG's apresentam reduzida solubilidade aquosa, muito embora, correspondem estruturalmente à substâncias anfífilas.

Considerando o comportamento observado para os valores de $\log S_w^*$ nos sistemas HPA:biodiesel:água (Figuras 43 a 46), podendo representar nesse caso, o $\log S_{c,i}$ da Eq. 23, é possível avaliar se o modelo tem aplicabilidade para as faixas em que foi observado os ajustes lineares (f_1 e f_2), analisando-se o intercepto do modelo, ou seja, o valor de $\log S_{w,i}$.

Por exemplo, Kaipper (2003) avaliou o efeito de diferentes frações volumétricas de etanol (f) na solubilidade aquosa do naftaleno, antraceno e pireno. Portanto, em uma mistura água/co-solvente ($S_{c,i}$) obtendo-se resultados bastante satisfatórios quanto ao emprego da Eq. 23 ($R^2 > 0,97$). Assim, ao considerar as equações fornecidas pela relação $\log S_{c,i}$ vs. f é possível extrair os valores do intercepto que representam originalmente o $\log S_{w,i}$, ou seja, a solubilidade de equilíbrio dos HPA's (S_w), exemplo dos resultados apresentados na Tabela 20. No caso do estudo de Kaipper (2004), os valores do intercepto e de S_w foram iguais a 39,5 mg L⁻¹ (naftaleno), 0,07 mg L⁻¹ (antraceno) e 0,23 mg L⁻¹ (pireno), estando em acordo inclusive com os experimentos realizados pela autora.

Neste sentido, quando avaliado o intercepto das equações fornecidas pela regressão linear entre $\log S_w^*$ e f , no caso dos experimentos com biodiesel e a distinção entre os ajustes na faixa f_1 (0,05-1%) e f_2 (1-10%), obtém-se os valores mostrados na Tabela 26.

Brevemente, é possível verificar que não existiu ao certo uma correspondência dos valores de S_w a partir da relação discutida envolvendo o modelo log-linear e os valores de S_w obtidos experimentalmente neste estudo (Tabela 20) e disponíveis na literatura (Tabela 4). Assumindo que este estudo avaliou pela primeira vez o

comportamento da solubilidade aquosa de HPA's na presença de biodiesel em meio aquoso, visando explicar a sua ocorrência a partir de agregados estruturais, permite-se então inferir que a atividade de co-solvência, provavelmente, não deva caracterizar o relevante efeito em solubilizar HPA's como apresentado nesta secção.

TABELA 26 – Valores do intercepto convertidos a partir das equações fornecidas pelo ajuste linear de dados para as duas faixas observadas (f_1 e f_2) a partir da relação $\log S_w^*$ vs. f .

HPA (mg L ⁻¹)	BM1		BE2	
	f_1	f_2	f_1	f_2
Naftaleno	11,7	38,9	20,4	46,8
Fenantreno	3,71	14,8	2,88	8,13
Antraceno	0,35	8,51	0,99	7,41
Pireno	1,17	12,3	1,62	10,7

Hollebone *et al.* (2008) ao estudarem o comportamento de frações solúveis aquosas na presença de misturas diesel/biodiesel por meio da técnica de cromatografia, considerando a solubilidade de ambos os combustíveis somente pelos sinais obtidos nos cromatogramas a partir da análise da fração solúvel, concluíram dentro da incerteza experimental que não foram observados efeitos de co-solvência não-lineares com o aumento da fração volumétrica de biodiesel (B5 até B100), muito embora, a análise procedeu qualitativamente, não discriminando os constituintes do óleo diesel tal como os HPA's.

Resumindo, a partir dos resultados discutidos anteriormente, que relacionaram a capacidade de auto-agregação de EAG's, provavelmente, essa possa ser uma questão fundamental que permita compreender as interações existentes com a fase provida de agregados no meio aquoso e o seu papel na solubilização de COH's como os HPA's.

Segundo Hollebone *et al.* (2008), a composição do biodiesel é favorável em particionar para o meio aquoso uma grande quantidade de constituintes da sua composição original, identificando-os como os EAG's. De fato, esses representam os constituintes principais da composição do biodiesel e, dessa forma, quando em contato com a água podem viabilizar o comportamento observado para a formação de agregados (CAC). Dependendo da concentração dos e das interações intermoleculares entre seus constituintes pode favorecer a formação da fase de agregados, podendo ocorrer acima da solubilidade do biodiesel, conforme foi discutido anteriormente.

Além disso, essa fase de agregados pode resultar em uma emulsificação do meio, no qual os EAG's podem atuar na dissolução de COH's solubilizando-os no interior da fase de agregados, predominantemente de caráter hidrofóbico, ao considerar a larga cadeia alifática dos EAG's estudados (C₁₆-C₁₈). Os resultados observados para a turbidez podem indicar justamente a existência de emulsões devido à presença de largos agregados que conferem uma dispersão da luz proporcional ao aumento da concentração avaliada em meio aquoso.

4.4. HPAs EM AMOSTRAS BRASILEIRAS DE DIESEL

Nas Tabelas 27 e 28 são reportados os resultados obtidos para a composição de HPAs nas amostras de diesel D1 (comercial) e D2 (refinaria).

Pela caracterização química das amostras D1 e D2, foi verificado que os HPA's de baixo peso molecular contendo dois e três anéis aromáticos foram responsáveis por cerca de 96% da composição total de HPA's, com base na lista dos 16 prioritários (Figura. 14), portanto, os componentes de maior concentração na fase orgânica (C_o), adotando o diesel como uma típica fase LNAPL avaliada em eventos de contaminação subsuperficial por combustíveis líquidos. Para a amostra D1, os HPA's predominantes foram: naftaleno, antraceno e fenantreno. Para a amostra D2, o naftaleno foi de longe o HPA predominante na composição do óleo diesel, representando 79,8% da composição total dentre os HPA's quantificados.

TABELA 27 – Resultados obtidos para C_o em mg L⁻¹ (±σ) e μg g⁻¹, fração molar (X_o) e log C_w, referente aos HPA's quantificados por CG-MS na amostra de diesel D1. A linha tracejada separa os HPAs entre baixo e alto peso molecular.

HPA	C _o (mg L ⁻¹)	σ (±)	RSD (%)	% do total	μg g ⁻¹	X _o	C _w (μg L ⁻¹) [‡]
Naftaleno	259,68	0,22	0,08	37,7	309,92	5,08x10 ⁻⁴	51,1
Acenafteno	11,34	0,14	1,23	1,65	13,53	1,84x10 ⁻⁵	0,35
Fluoreno	80,09	1,42	1,77	11,6	95,58	1,21x10 ⁻⁴	1,60
Fenantreno	145,87	2,52	1,73	21,2	174,09	2,05x10 ⁻⁴	1,17
Antraceno	167,17	2,90	1,73	24,3	199,51	2,35x10 ⁻⁴	0,63
Fluoranteno	0,85	0,10	11,76	0,12	1,01	1,05x10 ⁻⁶	1,49x10 ⁻³
Pireno	12,43	1,37	11,02	1,80	14,83	1,54x10 ⁻⁵	3,20x10 ⁻²
Benzo[a]antraceno	4,79	0,64	13,36	0,70	5,72	5,26x10 ⁻⁶	1,05x10 ⁻³
Criseno	4,84	0,64	13,22	0,70	5,78	5,31x10 ⁻⁶	1,99x10 ⁻³
Benzo[a]pireno	1,65	0,16	9,67	0,24	1,97	1,64x10 ⁻⁶	9,10x10 ⁻⁵
Total	688,71	-	-	100	821,95	1,12x10 ⁻³	-

[‡] Lei de Raoult (Eq. 11).

TABELA 28 – Resultados obtidos para C_o em mg L^{-1} ($\pm\sigma$) e $\mu\text{g g}^{-1}$, fração molar (X_o) e $\log C_w$, referente aos HPA's quantificados por CG-MS na amostra de diesel D2. A linha tracejada separa os HPA's entre baixo e alto peso molecular.

HPA	C_o (mg L^{-1})	σ (\pm)	RSD (%)	% do total	$\mu\text{g g}^{-1}$	X_o	C_w ($\mu\text{g L}^{-1}$) [‡]
Naftaleno	942,85	55,47	5,9	79,8	1093,80	$1,79 \times 10^{-3}$	180,3
Acenafteno	48,24	5,99	12,4	4,08	55,97	$7,62 \times 10^{-5}$	1,43
Fluoreno	26,39	4,98	18,9	2,23	30,61	$3,87 \times 10^{-5}$	0,51
Fenantreno	92,84	3,72	4,0	7,86	107,71	$1,27 \times 10^{-4}$	0,72
Antraceno	24,28	0,44	1,8	2,06	28,17	$3,32 \times 10^{-5}$	0,09
Fluoranteno	4,50	0,61	13,5	0,38	5,22	$5,42 \times 10^{-6}$	$7,69 \times 10^{-3}$
Pireno	22,04	3,92	17,8	1,87	25,57	$2,66 \times 10^{-5}$	$5,52 \times 10^{-2}$
Benzo[a]antraceno	7,10	0,94	13,2	0,60	8,23	$7,57 \times 10^{-6}$	$1,48 \times 10^{-3}$
Criseno	8,06	2,94	23,2	0,75	10,24	$9,42 \times 10^{-6}$	$3,52 \times 10^{-3}$
Benzo[b]fluoranteno	0,08	0,04	34,2	0,01	0,10	$8,04 \times 10^{-8}$	$3,26 \times 10^{-3}$
Benzo[a]pireno	3,80	0,76	20,0	0,32	4,41	$3,67 \times 10^{-6}$	$2,04 \times 10^{-4}$
Dibenzo[a,h]antraceno	0,12	0,06	33,4	0,01	0,15	$1,13 \times 10^{-7}$	$1,58 \times 10^{-5}$
Total	1181,10	-	-	100	1370,18	$2,12 \times 10^{-3}$	-

[‡] Lei de Raoult (Eq. 11).

Em relação aos HPA's de alto peso molecular no diesel D1, contendo entre 4-6 anéis aromáticos, quantificou-se fluoranteno, pireno, benzo[a]antraceno, criseno e benzo[a]pireno, variando o percentual de contribuição entre 0,12% (fluoranteno) e 1,8% (pireno). Esses mesmos HPA's estiveram presentes na amostra D2, adicionado do benzo[b]fluoranteno e dibenzo[a,h]antraceno, porém, ambos em percentuais $\leq 0,01\%$. Em relação aos demais, representaram entre 0,32% (benzo[a]pireno) e 1,87% (pireno) do total.

Dessa forma, 10 e 12 HPA's da lista dos 16 prioritários foram quantificados na amostras D1 e D2, respectivamente. Os valores de C_o total foram $688,71 \text{ mg L}^{-1}$ (D1) e $1181,10 \text{ mg L}^{-1}$ (D2).

De forma análoga, Lee *et al.*, (1992) estudaram diferentes tipos de óleo diesel. Dentre os HPA's quantificados, os autores obtiveram resultados para o naftaleno, acenafteno, fluoranteno, fenantreno, antraceno e pireno, e uma ampla faixa de ocorrência entre as amostras considerando C_o . Por exemplo, valores para o naftaleno entre $300-1500 \text{ mg L}^{-1}$, fenantreno entre $100-1500 \text{ mg L}^{-1}$ e $100-300 \text{ mg L}^{-1}$ para o antraceno, além de $1,5-125 \text{ mg L}^{-1}$ para o fluoranteno.

Pelos valores de C_o entre as amostras D1 e D2 também foi possível verificar uma composição diferente entre ambas as amostras, demonstrando a possibilidade da composição de HPA's no óleo diesel apresentar similaridades entre os seus

componentes, mas podendo variar largamente, a exemplo do naftaleno, fenantreno e antraceno.

A partir da fração molar correspondente no óleo diesel (X_o), nota-se que os HPA's representaram 0,11% (D1) e 0,21% (D2) da composição do diesel ($m\ m^{-1}$). Os valores individuais de X_o constam nas Tabelas 28 e 29. Esses foram obtidos aplicando a Eq. 12. Foi adotado o valor de $210\ g\ mol^{-1}$ para MM_o (Tabela 4), ρ_o foi extraído da Tabela 12 e MM_i a partir dos valores disponibilizados na Tabela 5

A composição dos HPA's quantificados nas amostras D1 e D2 concordaram com a caracterização de outra amostra de diesel comercial brasileira, a partir da qual Kaipper (2003) verificou que HPA's de 2 e 3 anéis benzênicos representaram 98% do total detectado, sendo que 79% correspondeu aos naftalenos. Por outro lado, um número maior de HPA's foram quantificados (não apenas entre os 16 prioritários), indicando uma concentração de $16\ 620\ \mu g\ g^{-1}$ e contribuição de 2,1% da composição total de hidrocarbonetos do óleo diesel.

A partir da normalização de C_o pelos valores de ρ_o das amostras de diesel D1 e D2 (Tabela 11) foi verificado uma concentração de $821,95\ \mu g\ g^{-1}$ e $1370,18\ \mu g\ g^{-1}$, os quais representaram, respectivamente para D1 e D2, 4,9% e 8,2% do valor obtido por Kaipper (2003), porém, próximo da contribuição dos HPA's no óleo diesel ao considerar somente os HPA's prioritários (US EPA) a qual foi igual a $1040\ \mu g\ g^{-1}$, com uma detecção bastante similar dos HPA's obtidos nas amostra D1 e D2.

Essa maior contribuição de HPA's de baixo peso molecular na composição do óleo diesel pode ser justificada pelos resultados obtidos por Corrêa e Arbilla (2006), ao quantificarem as emissões atmosféricas da exaustão de motores a diesel e misturas diesel/biodiesel (B2, B5 e B20). Os autores evidenciaram que a ocorrência de HPA's formados por 2 e 3 anéis benzênicos foram responsáveis pela emissão de 95,7% das emissões totais de poliaromáticos.

A partir das Tabelas 27 e 28 são apresentados os valores estimados a partir da Lei de Raoult (Eq. 11), ao considerar a concentração de equilíbrio (C_w) na fase aquosa assumindo um condição ideal em equilíbrio com a fase orgânica (LNAPL), sendo proporcional a valor de X_o do componente de interesse (LEE *et al.*, 1992). Os valores foram calculados a partir das respectivas frações molares (X_o) dos HPAs nas amostras de diesel e dos valores da solubilidade sub-resfriada (S_{w-sub}). Essa foi obtida para o naftaleno, fenantreno, antraceno e pireno a partir dos dados experimentais conforme

Tabela 20. Para demais HPA's, foi calculada segundo a Eq. 16 utilizando-se dos valores de S_w e P_f disponíveis na Tabela 4.

Ao considerar esse valor obtido pela Lei de Raoult como possível de sua ocorrência em eventos de contaminação, para condições de idealidade, é possível verificar que o naftaleno no caso da amostra D1 ($C_w=51,1 \mu\text{g L}^{-1}$) não cumpriria o valor de referência (VR) indicado na Tabela 6, bem como o fluoreno ($C_w=1,60 \mu\text{g L}^{-1}$). Para o diesel D2, o mesmo comportamento seria observado para o naftaleno ($C_w=180,3 \text{ mg L}^{-1}$), mas também em relação ao valor de investigação (VI).

4.5. Sistemas diesel:água e diesel/biodiesel:água

Os resultados aqui apresentados permitem avaliar se o mesmo comportamento observado para a solubilidade aquosa de HPA's (S_w) nos sistemas HPA:OE:água e HPA:biodiesel:água, discutida como S_w^* , foi reprodutível quanto ao aumento da concentração de equilíbrio (C_w) de HPA's na fase aquosa a partir da complexa composição de hidrocarbonetos do diesel e do equilíbrio de partição $K_{o/w}$. Permitindo avaliar também se o biodiesel pode influenciar nos valores de C_w e nas condições de idealidade (Lei de Raoult).

Na Figura 48 é ilustrado o aspecto visual dos sistemas de equilíbrio de fases na ausência (diesel D2:água) e presença de biodiesel (diesel D2/biodiesel:água) em diferentes frações volumétricas adicionadas previamente ao diesel, para uma proporção volumétrica final ($v v^{-1}$) de $f_{org}:f_{aq}$ igual a 1:20, após o t_{eq} fixado em 7 dias ($T 20\pm 2^\circ\text{C}$, 200 rpm).

Foi possível verificar que nessas condições experimentais, é facilmente perceptível a formação de soluções turvas a partir da presença de uma f_{org} constituída por 10% de biodiesel etílico e 90% de diesel D2.

Esse comportamento foi constatado por DeMello *et al.* (2007) e Hollebhone *et al.* (2008) a partir de sistemas contendo biodiesel a uma contribuição de 20% nas misturas diesel/biodiesel. Esses autores descreveram as soluções como sendo misturas brancas opacas presentes na fase aquosa.

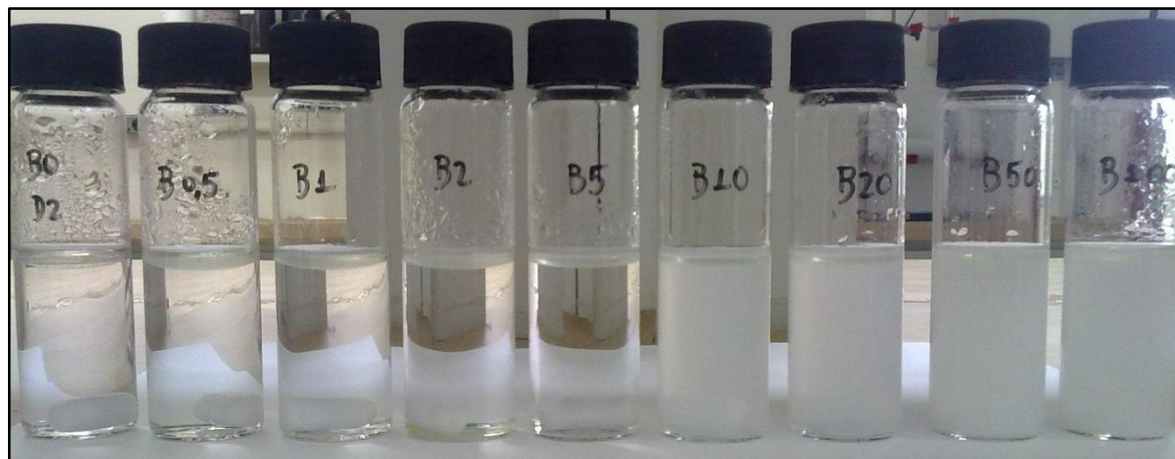


FIGURA 48 – Aspecto visual observado para os sistemas de equilíbrio de fases diesel D2/biodiesel:água após t_{eq} 7 dias, $T 20 \pm 2$ °C, 200 rpm, na presença de diferentes frações voluméticas em f_{org} ($f 0,005-1$), para uma proporção diesel:água 1:20 ($v v^{-1}$).

Exatamente nessa direção, DeMello *et al.* (2007) discutiram que EAG's em presença de diesel e biodiesel em meio aquoso, podem favorecer associações na interface óleo:água, levando a um decréscimo na tensão interfacial do sistema.

Assim, como possível resultado, pequenas gotículas de óleo formadas pela presença de agitação do sistema podem ser estabilizadas na presença de EAG's, permitindo que essas experimentem uma maior interação na fase aquosa antes de sua re-agregação com gotas maiores retornando para a superfície. Consideraram também que na presença de eventos turbulentos, os EAGs podem favorecer uma maior incorporação de gotículas de óleo na água, podendo proporcionar maiores taxas de dissolução de hidrocarbonetos da fase *NAPL*, devido à uma maior área superficial em relação ao volume das gotículas de óleo.

Na Figura 49, os sistemas apresentados referem-se ao equilíbrio de fases entre diesel D1:água. Nesse caso, os experimentos foram conduzidos sem qualquer adição de biodiesel, devido à caracterização da amostra de diesel indicar a presença de 4,6% de biodiesel de fonte desconhecida, mas muito provavelmente constituído por EMAG's. Pela figura pode-se visualizar a fase superior do *NAPL* (diesel D1) e a fase aquosa (inferior). É possível ainda verificar a presença de turbidez em f_{aq} , podendo estar relacionada com a concentração de biodiesel na composição do diesel D1.



FIGURA 49 – Aspecto visual observado para os sistemas de equilíbrio de fases diesel D1:água após t_{eq} 7 dias, T 20 ± 2 °C, 200 rpm, para uma proporção diesel:água 1:20 ($v v^{-1}$).

No entanto, o diesel D1 é caracteristicamente um produto comercial, dessa forma, a presença de diferentes aditivos em concentrações específicas, tais como dispersantes, antioxidantes, lubrificantes e aditivos oxigenados como o etanol (RIBEIRO *et al.* 2007) deve ser considerada. Já a amostra de diesel D2 (Figura. 50). foi obtida direto do processo de refino e visualmente é ausente de coloração.

Dessa forma, considerando que a caracterização do diesel D1 também foi realizada para a composição de HPA's, foi experimentado avaliar se o percentual de biodiesel existente no diesel comercial apresentaria capacidade de promover um maior particionamento de HPA's do diesel para a fase aquosa, alterando dessa forma os valores de C_w e também a partição $K_{o/w}$. Comportamento similar estudado para os sistemas na presença de diesel D2.



FIGURA 50 – Aspecto visual observado para os sistemas de equilíbrio de fases diesel D2:água após t_{eq} 7 dias, T 20 ± 2 °C, 200 rpm, para uma proporção diesel:água 1:20 ($v v^{-1}$).

Os resultados obtidos para os HPA's naftaleno, fenantreno e antraceno a partir das triplicatas avaliadas para os experimentos diesel D1:água são mostrados na Tabela 29.

TABELA 29 – Concentração de equilíbrio na fase aquosa (C_w) para sistemas de equilíbrio de fases diesel D1:água, avaliados na proporção 1:20 ($v v^{-1}$), (t_{eq} 7 dias, T $20 \pm 2^\circ C$, 200 rpm) e valores de $K_{o/w}$ e α .

HPA	C_w ($\mu g L^{-1}$)	σ (\pm)	RSD (%)	$K_{o/w}$	α^\ddagger (%)
Naftaleno	139,0	8,14	5,9	3,27	$1,1 \times 10^{-2}$
Fenantreno	4,16	0,53	12,8	4,54	$5,7 \times 10^{-4}$
Antraceno	5,77	1,48	25,6	4,46	$6,9 \times 10^{-4}$

$\ddagger V_w C_w / V_o C_o$, em que V_w e V_o referem-se, respectivamente, ao volume das fases aquosa e orgânica (SCHLUEP *et al.*, 2001).

Analisando os valores de C_w , tomando como base os resultados estimados a partir da Lei de Raoult (Tabela 27), é possível verificar que os dados experimentais apresentaram valores superiores, demonstrando um comportamento distinto à condição de idealidade calculada. A partir da fração relativa na fase aquosa (α) foram verificados valores entre $5,7 \times 10^{-4}\%$ (fenantreno) e $1,1 \times 10^{-2}\%$ (naftaleno).

Considerando os valores guia para qualidade de águas subterrâneas dispostos na Tabela 7, notou-se que o naftaleno e o antraceno ultrapassaram os limites estabelecidos (VR).

Esses resultados para a amostra D1 podem indicar que para o t_{eq} de 7 dias, a presença de 4,6% de biodiesel na fase correspondente ao diesel (f_{org}) possibilitou uma partição desses HPA's para f_{aq} , visto que as soluções ficaram caracteristicamente turvas, assim como foi observado nos experimentos realizados para determinação da CAC nas amostras de biodiesel.

De fato, ao considerar os sistemas HPA:biodiesel:água foi possível evidenciar uma significativa solubilização de HPA's para o meio aquoso, podendo também influenciar na transferência de massa entre as fases orgânica e aquosa, alterando a sua concentração de equilíbrio C_w .

Uma possível explicação é que os agregados formados no sistema podem proporcionar uma região no interior de suas estruturas, de características hidrofóbicas, permitindo que moléculas de HPA's provenientes da fase orgânica sejam transferidas a partir de um sistema estabilizado pela presença de EAG's (biodiesel), possibilitando alterar os valores de C_w em condições de idealidade (Lei de Raoult).

Um mecanismo provável que pode ocorrer também, descrito por Karaborni *et al.* (1993), é a colisão entre moléculas, permitindo que a fase de agregados de EAG's seja responsável por transportar moléculas de HPA's presentes no diesel para a fase aquosa. Além disso, conforme destaca Sikkema, Bont e Poolman (1995), ambientes favorecidos pela presença de emulsões resultam em um aumento na área superficial de troca, podendo facilitar taxas de dissolução associadas com a transferência de massa.

Cabe destacar que este estudo deve ser tratado com cautela, uma vez que o comportamento dos EAGs é pouco explorado quanto aos seus efeitos de possibilitar maiores concentrações de HPA's e/ou outros COH's na fase aquosa.

Na sequência, os resultados obtidos para o sistema diesel D2:água na presença de diferentes frações volumétricas (f) de biodiesel etílico (BE2) são reportados para o naftaleno e fenantreno (Figura 51).

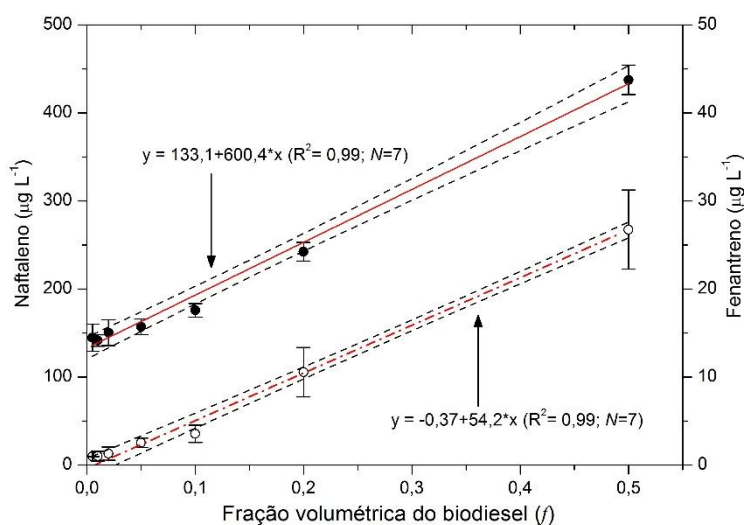


FIGURA 51 – Concentração de equilíbrio em meio aquoso (C_w) para o naftaleno (●) e fenantreno (○), em função da fração volumétrica de biodiesel etílico (f) em sistemas de equilíbrio de fases diesel D2:água (t_{eq} 7 dias, $T=20\pm 2^\circ\text{C}$, 200 rpm). As linhas em vermelho indicam o modelo de regressão linear simples. O nível de confiança ($p < 0,05$) também é apresentado (---). As barras verticais representam o erro (σ) a partir das duplicatas analisadas.

Nos experimentos com ausência de biodiesel (B0), foram obtidos valores de C_w de $136,3\pm 3,9 \mu\text{g L}^{-1}$ (naftaleno) e $1,28\pm 0,07 \mu\text{g L}^{-1}$ (fenantreno), respectivamente, inferior e superior ao valor estimado a partir da Lei de Raoult (Tabela 28).

A partir das amostras contendo somente biodiesel etílico na fase orgânica (B100), correspondente a 1 ml de solução, a presença desses HPA's correspondeu a

valores iguais a $1,54 \pm 0,3 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,28 \pm 0,05 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente para o naftaleno e fenantreno. Esses valores médios foram descontados dos resultados obtidos para os experimentos contendo biodiesel para diferentes frações volumétricas (f) na fase orgânica.

Os efeitos do biodiesel em promover um particionamento de HPA's para a fase aquosa foram constatados para o naftaleno e fenantreno, selecionados como modelo de contaminantes para discussão desses resultados.

Pela Figura 51 foi possível observar que os valores de C_w na idealidade do sistema foram significativamente alterados com o aumento da fração volumétrica (f) de biodiesel no volume correspondente a fase orgânica ($V_o=1\text{ml}$). Isso significa que, gradativamente, foram adicionados volumes entre 5-500 μL de BE (BE2), permitindo analisar uma ampla faixa relacionada a f , entre 0,005-0,5.

Assim como observado por Leme *et al.* (2012), a concentração de HPA's presentes na composição de amostras de óleo diesel deve reduzir com o aumento da fração volumétrica correspondente de biodiesel. Esses autores observaram reduções na concentração de HPA's após realizar diferentes simulações de derramamento de misturas diesel/biodiesel em água para condições controladas.

Por outro lado, os experimentos realizados neste estudo consistiram de sistemas de equilíbrio de fases, nos quais a presença de lenta e contínua agitação durante o tempo de equilíbrio estabelecido ($t_{\text{eq}}=7$ dias), permitindo que as moléculas de EAG's, a partir de interações entre o meio aquoso e a fase orgânica, possam ser descritas como, provavelmente, as principais responsáveis pelo comportamento observado na Figura 51. A solubilidade dos HPA's apresentou uma contínua linearidade na faixa de valores de f adotados nos sistemas estudados.

A partir dos valores disponíveis na Tabela 6, a concentração de equilíbrio do naftaleno na presença do biodiesel etílico ultrapassou os limites dispostos para VI ($140 \mu\text{g L}^{-1}$) como VR ($10 \mu\text{g L}^{-1}$). No caso do fenantreno, o limite VR ($5,0 \mu\text{g L}^{-1}$) não foi atendido ao considerar o comportamento de C_w .

Em resumo, os valores de C_w alcançaram valores máximos de $437,6 \pm 16,7 \mu\text{g L}^{-1}$ para o naftaleno e $26,8 \pm 4,5 \mu\text{g L}^{-1}$ para o fenantreno. Assim, é razoável descrever que o biodiesel na presença de seus agregados de EAG's, formados em reduzidas concentrações, expliquem o modelo de comportamento avaliado para a partição de HPA's no meio aquoso.

A Figura 52 demonstra o comportamento do equilíbrio de partição líquido-líquido ($\log K_{o/w}$), calculado pela Eq.8, em função do biodiesel adicionado no sistema. Os valores médios obtidos foram iguais a $3,70 \pm 0,17$ (naftaleno) e $4,46 \pm 0,51$ (fenantreno).

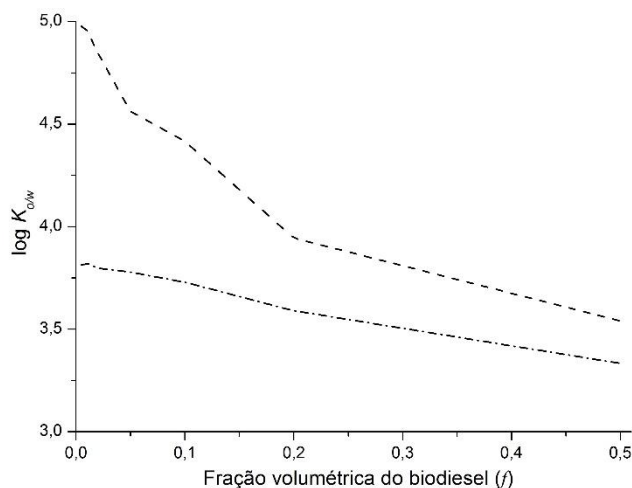


FIGURA 52 – Comportamento dos valores de $K_{o/w}$ para o naftaleno (---) e fenantreno (linha traço ponto) em função da fração volumétrica do biodiesel (f), obtidos a partir do sistema de equilíbrio de fases diesel D2:água, na presença de misturas diesel/biodiesel.

Por fim, é importante frisar que deve ser esperado um comportamento distinto entre os experimentos de solubilidade (HPA:OE:água e HPA:biodiesel:água) e de equilíbrio de partição líquido-líquido, esse último avaliado para a concentração de equilíbrio observada na fase aquosa (C_w). Além disso, representaram sistemas na presença, respectivamente, dos HPA's a partir do seu estado puro e a partir do modelo de fase orgânica líquida (NAPL), nesse caso o diesel. Para o segundo caso, os valores de C_w deve associar-se com as respectivas frações molares (X_o) de cada HPA em relação à composição total de hidrocarbonetos do diesel.

Em relação aos experimentos de solubilidade (S_w^*), uma quantidade pré-determinada (mg) dos HPA's adicionada em excesso possibilitou quantificar uma maior concentração desses compostos no meio aquoso, em presença de OE ou frações volumétricas de biodiesel (BM1 e BE2) e para as condições experimentais simuladas (t_{eq} , T , agitação), apresentando também valores de S_w em condições de equilíbrio (HPA:água).

A partir dos resultados obtidos nos sistemas de equilíbrio de fases desenvolvidos neste estudo, a formação de agregados, relacionados com uma redução na energia livre ΔG_{ag} (MOGELSON; PIEPER. LANGE, 1984), promoveu uma estabilidade no sistema, favorecendo um aumento substancial na difusão de moléculas do soluto para

a fase aquosa. Esses por sua vez, podendo representar a formação de emulsões no meio e o comportamento dos resultados obtidos nos ensaios de turbidez.

Esse conceito comparando-se a estrutura molecular dos EAG's com moléculas de natureza anfifílica é novo, principalmente, no que concerne aos potenciais efeitos de solubilizar e particionar HPA's para o meio aquoso, conforme foi constatado pelos resultados obtidos a partir de diferentes experimentos em escala de bancada.

Dessa forma, foi comprovado nesse estudo que EAG's (estudados a partir do PE, EE, OE e LE) e composição mistas de EAG's a partir de amostras de biodiesel formam estruturas agregadas entre si (monômeros). Por outro lado, se essas representam ambientes caracteristicamente formados por micelas e que tipo de agregados encontram-se presente são questões que ainda necessitarão ser avaliadas.

5. CONCLUSÕES

A consolidação de evidências relacionadas à formação de agregados de EAG's e seu potencial efeito em aumentar a solubilidade aquosa de HPA's foi investigada, uma vez que estudos nessa direção não foram verificados na literatura, configurando um caráter inédito da pesquisa desenvolvida, bem como da metodologia analítica desenvolvida, possibilitando aprofundar uma discussão sem precedentes na linha de pesquisa desenvolvida. Na sequência, as principais conclusões são sumarizadas:

- O procedimento experimental elaborado e aplicado neste estudo no preparo de biodiesel apresentou resultados satisfatórios para o propósito de uso pretendido para as amostras.
- A determinação da CAC através da técnica dispersiva de luz ensaiada a partir de medições de turbidez (τ) demonstrou que o comportamento dos EEAG's estudados na sua forma pura e pelas amostras de biodiesel concordaram com o princípio de que a partir de uma determinada concentração da substância ou das misturas (no caso de BM1 e BE2), o comportamento da distribuição dos dados é alterada, promovendo maiores valores de τ em função da concentração, evidenciando a formação de estruturas maiores que seus monômeros. Os valores para EEAG's, BM e BE ocorreram na mesma ordem de grandeza (10^{-6} M).
- O emprego do pireno como sensor fluorescente para mediar as perturbações na polaridade do solvente do meio foi bastante condizente com os conceitos discutidos na literatura e também avaliados neste estudo, permitindo compreender a formação de agregados de EAG's. Foi verificado que o modelo de ajuste sigmoidal segundo a função tipo Boltzmann, apresentou resultados bastante satisfatórios na simulação do comportamento observado para os dados amostrais obtidos experimentalmente. Pela análise de diferentes parâmetros (I_1/I_3 , x_0 , $x_0/\Delta x$, A_2 , ΔA), foi possível elucidar conceitos que associaram a presença de EAG's em meio aquoso com a ruptura observada na polaridade do meio, com significativas reduções para valores característicos de ambientes hidrofóbicos, também representando o fenômeno de auto-agregação a partir de soluções monoméricas.
- Pelos resultados de CAC estimados a partir de τ e I_1/I_3 constatou-se que a faixa de ocorrência foi muito próxima para os EEAG's, demonstrando que dois métodos

distintos permitiram reproduzir o mesmo comportamento esperado. Esse resultado foi relevante para prever a formação de agregados de EAG's.

- O procedimento experimental estabelecido e aplicado neste estudo para os ensaios de τ e I_1/I_3 possibilitaram prever valores de CAC para EEAG's e amostras de biodiesel de forma rápida, simples e com precisão, além da constatação de uma boa sensibilidade e seletividade dos métodos empregados.

- O índice de polaridade do pireno (I_1/I_3), segundo o procedimento experimental desenvolvido neste estudo para EAG's, foi comprovado também para um surfactante comercial de natureza não iônica, para o qual os valores de CMC observados na literatura concordaram com o valor determinado. Isso permitiu confirmar que pela evaporação do solvente orgânico utilizado na dissolução dos EEAG's e amostras de biodiesel seguido da adição de $SSat_{PN}$ e sonicação, os sistemas em meio aquoso viabilizaram a determinação de CAC. Além disso, possibilitou o preparo de soluções em meio aquoso (ausente de $SSat_{PN}$) para análises de turbidez e realização dos estudos de solubilidade no sistema HPA:OE:água.

- O termo CAC foi preferencialmente escolhido para discussão dos resultados obtidos, uma vez que não foi possível confirmar se os EAG's realmente formam ambientes micelares distintos como aqueles reconhecidamente associados a agentes tensoativos. No entanto, uma importante definição, citando Mogelson, Pieper e Lange (1984), consistiu da existência de um equilíbrio favorável termodinamicamente entre soluções monoméricas no meio aquoso e uma fase de agregados formada a partir de uma concentração limite (CAC), a qual existe para valores superiores a solubilidade aquosa dos ésteres. Esse comportamento foi discutido também para as misturas de EAG's (amostras de biodiesel).

- A metodologia de extração líquido-líquido (ELL) foi modificada neste estudo. Os resultados obtidos pelas condições experimentais estabelecidas foram satisfatórios, avaliando-se a sua eficiência por meio de distintos testes de recuperação utilizando soluções aquosa com concentração conhecida de contaminante.

- Pela primeira vez, de que se tem conhecimento a partir da literatura, foi evidenciado por meio de experimentos relacionados com sistemas de equilíbrio de fases em condições experimentais controladas, que na presença de EAG's (HPA:OE:água e HPA:biodiesel:água) a solubilidade dos HPA's foi significativamente maior do que os valores determinados nas condições de equilíbrio em sistemas

HPA:água (S_w). Os resultados foram discutidos a partir da solubilidade aquosa aparente (S_w^*).

- A formação de agregados de EAG's em meio aquoso representa um resultado relevante sobre o comportamento do biodiesel em misturas diesel/biodiesel e os riscos de contaminação subsuperficial, por exemplo, a partir do transporte e armazenamento desses combustíveis líquidos. No entanto, esse estudo foi desenvolvido em escala de bancada, restringindo a sua área de aplicação, porém, demonstrou que os HPAs podem experimentar uma maior solubilidade no meio aquoso. Embora não tenha sido totalmente elucidado, foi possível destacar a existência de interações entre a fase formada por agregados e os HPA's nos sistemas estudados. Acrescenta-se que pelos valores de CAC, a ocorrência de agregados em uma concentração mínima comparada aos percentuais de biodiesel atualmente regulamentados para uso comercial.

- Diferente do etanol, para o qual é sabidamente conhecido o potencial efeito de co-solvência para COH's, espera-se que o biodiesel não se comporte da mesma maneira, primeiramente por ser pouco ou virtualmente ausente de miscibilidade no meio aquoso. Pela interpretação dos dados obtidos para a solubilidade aquosa aparente (S_w^*) dos HPA's a partir de misturas contendo os quatro compostos estudados (naftaleno, fenantreno, antraceno pireno), notou-se um comportamento a partir do $\log S_w^*$ distinto para duas faixas de frações volumétricas (f_1 e f_2). Apesar de ambas apresentarem um bom ajuste linear, foi verificado que, interpretando o modelo log-linear, a relação entre $\log S_w^*$ vs. f não parece exercer atividade co-solvente em relação aos sistemas HPA:biodiesel:água.

- Os experimentos a partir das amostras de diesel permitiram simular em condições experimentais de equilíbrio estabelecidas neste estudo, uma maior partição de HPA's na fase aquosa procedente da composição da fase orgânica, devido à presença de diferentes frações volumétricas de biodiesel etílico, interpretado a partir de resultados obtidos para o naftaleno e fenantreno.

- Sabendo que o biodiesel é um combustível alternativo com forte tendência de crescimento quanto ao seu uso em motores do ciclo diesel, os seus efeitos na subsuperfície relacionando a contaminação por COH's procedente de vazamentos a partir de tanques de armazenamento de misturas diesel/biodiesel, a partir da explicação provida pela sua composição química (EAG's e formação de agregados), começaram a ser avaliados a partir dos resultados obtidos nesta pesquisa. Contudo,

existe uma importância clara de que novos estudos devem ser realizados para contrastar os resultados aqui obtidos permitindo desenvolver novas linhas de evidência sobre o problema relacionado, em sua essência, com problemas de áreas contaminadas por derivados do petróleo.

6. RECOMENDAÇÕES

Na sequência são reportadas alguns pensamentos para estudos futuros direcionados a linha de pesquisa desenvolvida nesta dissertação

- Avaliar o protocolo de preparo de soluções aquosas de EAG's a partir do seu estado puro ou misturas (biodiesel), para análises de tensão superficial, de tal maneira que permita melhor compreender os efeitos dos agregados.
- Avaliar o comportamento da solubilidade aquosa de HPA's na presença de diferentes frações volumétricas de biodiesel (HPA:biodiesel:água), procedente de diferentes insumos, considerando como parâmetros de controle o tempo de equilíbrio e a temperatura.
- Realizar experimentos em microcosmos, constituídos de uma fase sólida contaminada ou enriquecida em laboratório com COH's como HPA's, meio aquoso e a presença de EAG's no seu estado puro ou composição mista a partir de amostras de biodiesel, de modo a avaliar os processos de sorção de COH's do solo para a fase aquosa devido à ocorrência de agregados. Além disso permitir conciliar efeitos da biodisponibilidade desses contaminantes com a eficiência na atividade microbiana de biodegradação dos contaminantes.
- Viabilizar estudos a partir de técnicas microscópicas como microscopia eletrônica de varredura e microscopia de transmissão, que permitam ampliar o conhecimento sobre a formação de agregados a partir de EAG's.
- Avaliar o efeito do pH na formação de agregados e o comportamento dos resultados de CAC.
- Iniciar estudos em escala piloto, em condições experimentais controladas que permitam simular vazamentos de misturas diesel/biodiesel em modelos de aquíferos, possibilitando compreender em uma escala maior a existência de riscos frente a um maior particionamento de HPA's para a fase aquosa, possibilitando também modelar os fenômenos de transporte associados.

7. REFERÊNCIAS

ABED, M. A.; SAXENA, A.; BOHIDAR, H. B. Micellization of alpha-olefin sulfonate in aqueous solutions studied by turbidity, dynamic light scattering and viscosity measurements. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects**, v. 233, p. 181-187, 2004.

AGUIAR, J.; CARPENA, J. A.; BOLÍVAR, M.; RUIZ, C. C. On the determination of the critical micelle concentration by the pyrene 1:3 ratio method. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 258, p. 116-122, 2003.

ALAN, S.; KALITA, H.; KUDINA, O.; POPADYUK, A.; CHISHOLM, B. J.; VORONOV, A. Soy-based surface active copolymers as a safer replacement for low molecular weight surfactants. **Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 1, p. 19-22, 2013.

ANANTHAPADMANABHAN, K. P.; GODDARD, E. D.; TURRO, N. J.; KUO, P. L. Fluorescence probes for critical micelle concentration. **Langmuir**, v. 1, p. 352-355, 1985.

ANDRESEN, O.; KIRK, O. **Fatty Acid Esters of Ethyl Glucoside, A Unique Class of Surfactants**. In Proceeding of an International Conference, Carbohydrate Bioengineering, Progress in Biotechnology, Petersen, S. B.; Svensson, B.; Pedersen, S (Eds). Elsinore, Denmark, 1995.

ANP. **Banco de Dados Estatísticos**. Disponível em <<http://www.anp.gov.br>>. Acesso em Dez/2011 e Set/2012.

ANP. Resolução ANP N°. 42, de 16 de dezembro de 2009. **Diário Oficial da União**, 2010.

ANP. Resolução ANP N°. 7, de 19 de março de 2008. **Diário Oficial da União**, 2008.

ANP. Portaria ANP N°. 3, de 10 de janeiro de 2003. **Diário Oficial da União**, 2003.

ANP. Resolução ANP N°. 2, de 29 de janeiro de 2008. **Diário Oficial da União**, 2008.

ANVISA. Resolução N°. 899, de 29 de maio de 2003. **Diário Oficial da União**, 2003.

APHA. (1998). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20. Ed. Washington: APHA.

ATSDR: U.S. Department of Health and Human Services. **Toxicological profile for total petroleum hydrocarbons (TPH)**. Atlanta, Public Health Service, 1999, 315p.

AZAMBUJA, E.; CANCELIER, D.B.; NANNI, A.S. Contaminação dos solos por LNAPL: discussão sobre diagnóstico e remediação. **Anais do II Simpósio de Prática de Engenharia Geotécnica da Região Sul**, Porto Alegre, p.185-202, 2000.

BAGHA, A. R. T.; SINGH, R. G.; HOLMBERG, K. Solubilization of two organic dyes by anionic, cationic and nonionic surfactants. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 417, p. 133-139, 2013.

BANERJEE, S. Solubility of organic mixtures in water. **Environmental Science and Technology**, v. 18 (8), p. 587-591, 1984.

BEAR, J.; CHENG, A, H, D. **Modeling Groundwater Flow and Contaminant Transport**. 1º Ed., New York: Springer, 2010, 850p.

BECERRA, N.; TORO, C.; ZANOCCO, A. L.; LEMP, E.; GÜNTHER. Characterization of micelles formed by sucrose 6-O-monoesters. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 327, p. 134-139, 2008.

BIELSKA, M.; SOBCZYNSKA, A.; PROCHASKA, K. Dye-surfactant interaction in aqueous solutions. **Dye and Pigments**, v. 80, p. 201-205, 2009.

BIRMAN, I.; ALEXANDER, M. Effect of viscosity of nonaqueous-phase liquids (NAPLs) on biodegradation of NAPL constituents. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 15 (10), p. 1683-1686, 1996.

BOEHM, P. D. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), **Environmental Forensics**, pp. 313-337, 2005.

BRASIL. Lei Nº. 11.097, de 13 de janeiro de 2005: *Dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira; altera as Leis nºs 9.478, de 6 de agosto de 1997, 9.847, de 26 de outubro de 1999 e 10.636, de 30 de dezembro de 2002; e dá outras providências.* **Diário Oficial da União**, Brasília, 2005.

BROWN, D. G. Relationship between micellar and hemi-micellar processes and the bioavailability of surfactant-solubilized hydrophobic organic compounds. **Environmental Science and Technology**, v. 41, p. 1194-1199, 2007.

BÜCKER, F.; SANTESTEVAN, N. A.; ROESHCH, L. F.; JACQUES, R. J. S.; PERALBA, M. C.R.; CAMARGO, F. A. O.; BENTO, F. M. Impact of biodiesel on biodeterioration of stores Brazilian diesel oil. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 65, p. 172-178, 2011.

BUTLER, E. C.; HAYES, K. F. Micellar solubilization of nonaqueous phase liquid contaminants by nonionic surfactant mixtures: effects of sorption, partitioning and mixing. **Water Research**, v. 32 (5), p. 1345-1354, 1998.

CETESB. **Manual de Gerenciamento de Áreas contaminadas**, 2.ed., São Paulo: CETESB, 2001, 389p.

CHAKRABORTY, T.; CHAKRABORTY, I.; GHOSH, S. The methods of determination of critical micellar concentrations of the amphiphilic systems in aqueous medium. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 4, p. 265-270, 2011.

CHIOU, C. T. **Partition and adsorption of organic contaminants in environmental systems**. 1º Ed., USA: Willey Interscience - John Wiley & Sons, 2002, 264p.

CHU, W.; CHAN, K. H. The prediction of partitioning coefficients for chemicals causing environmental concern. **The Science of the Total Environment**, v. 248, p. 1-10, 2000.

CNPE - CONSELHO NACIONAL DE POLÍTICA ENERGÉTICA. Resolução CNPE Nº. 6, de 16 de setembro de 2009. **Diário Oficial da União**, 2009.

CONAMA. Resolução Nº. 420, de 28 de dezembro de 2009. “*Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas*”. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2009.

CONAMA. Resolução Nº. 396, de 03 de abril de 2008. “*Dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento das águas subterrâneas e dá outras providências*”. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2008.

CORDES, E. H.; DUNLAP, B. Kinetics of organic reactions in micellar systems. **Accounts of chemical research**, v. 2 (11), p. 329-337, 1969.

CORRÊA, S. M.; ARBILLA, G. Aromatic hydrocarbons emissions in diesel and biodiesel exhaust. **Atmospheric Environment**, v. 40, p. 6821-6826, 2006.

CORSEUIL, H. X.; ALVAREZ, P. J. J. Natural bioremediation perspective for BTX-contaminated groundwater in Brazil: effect of ethanol. **Water Science and Technology**, v. 34 (7-8), p. 311-318, 1996.

CORSEUIL, H. X.; KAIPPER, B. I. A.; FERNANDES, M. Cosolvency effect in subsurface systems contaminated with petroleum hydrocarbons and ethanol, **Water Research**, v. 38, p. 1449-1456, 2004.

CORSEUIL, H. X.; MONIER, A. L.; GOMES, A. P. N.; CHIARANDA, H. S.; ROSARIO, M. Biodegradation of soybean and castor oil biodiesel: implications on the natural attenuation of monoaromatic hydrocarbons in groundwater. **Ground Water Monitoring and Remediation**, v. 31 (3), p. 111-118, 2011.

CRAIG, B. B.; KIRK, J.; RODGERS, M. A. J. Fluorescence decay parameters for pyrene (S₁) in micellar and homogeneous liquid dispersions. **Chemical Physics Letters**, v. 49 (3), p. 437-440, 1977.

DEMELLO, J. A.; CARMICHAEL, C. A.; PEACOCK, E. E.; NELSON, R. K.; AREY, J. S.; REDDY, C. M. Biodegradation and environmental behavior of biodiesel mixtures in the sea: an initial study. **Marine Pollution Bulletin**, v. 54, p. 894-904, 2007.

DEMIRBAS, A. Biofuels securing the planet's futures energy needs. **Energy Conversion and Management**, v. 50, p. 2239-2249, 2009.

DEMIRBAS, A. Importance of biodiesel as transportation fuel. **Energy Policy**, v. 35, p. 4661-4670, 2007.

DOBBINS, R. A.; FLETCHER, R. A.; BENNER, B. A. J.; HOEFT, S. Polycyclic aromatic hydrocarbons in flames, in diesel fuels, and in diesel emissions. **Combustion and Flame**, v. 144, p. 773-781, 2006.

DOONG, R-an.; LEI, W-gang. Solubilization and mineralization of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Pseudomonas putida* in the presence of surfactant. **Journal of Hazardous Materials**, v. B96, p. 15-27, 2003.

EDWARDS, D. A.; LUTHY, R. G.; LIU, Z. Solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbons in micellar nonionic surfactant solutions. **Environmental Science and Technology**, v. 25, p. 127-133, 1991.

EN 590:2004. **Automotive Fuels - Diesel - Requirements and Test Methods**. Comitê Europeu de Normalização, Bélgica, 2004, 11p.

FERRER, M.; COMELLES, F.; PLOU, F. J.; CRUCES, M. A.; FUENTES, G.; PARRA, J. L.; BALLESTEROS, A. **Comparative surface activities of di-and trisaccharide fatty acid esters**. *Lagmuir*, v. 18, p. 667-673, 2002.

FILL, H. D.; MINE, M. R. M. **Hidrologia (notas de aula, capítulos 5 e 11)**. Curso de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica. Universidade Federal do Paraná, 1989.

FITTS, C. R. **Groundwater Science**. London: Academic Press, 2002, 467p.

FONTANA, J. D. **Biodiesel: para leitores de 9 a 90 anos**. 1º Ed., Curitiba: UFPR, 2011, 253p.

FROEHNER, S. J. **Efeito de Contra-Íon em Complexos Poli(oxietileno)-dodecilsulfato. Determinação de Contra-íons Aromáticos em Micelas de Cetiltrimetilamônio Através da Reação de Decomposição de um Sal de Diazônio**. (Tese de Doutorado), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1999.

FROEHNER, S. J.; LEITHOLD, J.; JÚNIOR, L. F. L. Transesterificação de óleos vegetais: caracterização por cromatografia em camada delgada e densidade, **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 2016-2019, 2007.

GAROFALAKIS, G.; MURRAY, B. S.; SARNEY, D. B. Surface activity and critical aggregation concentration of pure sugar esters with different sugar headgroups. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 229, p. 391-398, 2000.

GELLER, J. T.; HUNT, J. R. Mass transfer from nonaqueous phase organic liquids in water-saturated porous media. **Water Resources Research**, v. 29 (4), p. 833-845, 1993.

GERPEN, J. V.; KNOTHE, G. **Biodiesel Production: Basics of The Transesterification** in: *The biodiesel handbook*. Org por Knothe, G.; Gerpen, J. V.; Krahl, J, Champaign, Illinois: AOCS Press, Cap. 4 (4.1), p. 34-49, 2005.

GONG, Z.; WANG, X.; TU, Y.; WU, J.; SUN, Y.; LI, P. Polycyclic aromatic hydrocarbons removal from contaminated soils using fatty acid methyl esters. **Chemosphere**, v. 79, p. 138-143, 2010.

GOUVEIA, J. L. N.; NARDOCCI, A. C. Acidentes em postos e sistemas retalhistas de combustíveis: subsídios para a vigilância em saúde ambiental, **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 12, n. 3, p. 317-324, 2007.

GRIESER, F.; DRUMMOND, C. J. The physicochemical properties of self-assembled surfactant aggregates as determined by some molecular spectroscopic probe techniques. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 92 (20), p. 5580-5593, 1988.

GUHA, S.; JAFFÉ, P. R. Bioavailability of hydrophobic compounds partitioned into the micellar phase of nonionic surfactants. **Environmental Science and Technology**, v. 30, p. 1382-1391, 1996.

GUHA, S.; JAFFÉ, P. R.; PETERS, C. A. Solubilization of PAH mixtures by a nonionic surfactant. **Environmental Science and Technology**, v. 32, p. 930-935, 1998.

HAIT, S. K.; MOULIK, S. P. Determination of critical micelle concentration (CMC) of nonionic surfactants by donor-acceptor interaction with iodine and correlation of CMC with hydrophile-lipophile balance and other parameters of the surfactants. **Journal of Surfactants and Detergents**, v. 4 (3), p. 303-309, 2001.

HALASOVÁ, T.; KROUSKÁ, J.; PEKAR, M. Hyaluronan-surfactant interactions in physiological solution studied by tensiometry and fluorescence probe techniques. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 391, p. 25-31, 2011.

HAMELICK, C.; SCHOBER, S.; MITTELBAACH, M.; VEROLET, J.; DEHUE, B. **Fatty Acid Ethyl Esters**. BIOScopes project (EC project TREN/D2/44-LOT 3/S07.54848), 2007, 115p.

HOEKMAN, S. K.; BROCH, A.; ROBBINS, C.; CENICEROS, R.; NATARAJAN, M. Review of biodiesel composition, properties, and specifications. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16 (1), p. 143-169, 2012.

HOLLEBONE, B. P.; FIELDHOUSE, B.; LANDRIALT, M.; DOE, K.; JACKMAN. Aqueous solubility, dispersability and toxicity of biodiesels, in **International Oil Spill Conference**, Georgia, May/2008.

HOLMBERG, K. Natural surfactants. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 6, p. 148-159, 2001.

HOLMBERG, K.; JÖNSSON, B.; KRONBERG, B.; LINDMAN, B. **Surfactants and polymers in aqueous solution**. 2º Ed., England: John Wiley & Sons, 2003, 549p.

HONDA, C.; ITAGAKI, M.; TAKED, R.; ENDO, K. Solubilization of pyrene in $C_{7}E_7$ micelles. **Langmuir**, v. 18, p. 1999-2003.

HOU, C. T.; SHAW, J. F. **Biocatalysis and bioenergy**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2008, 604p.

HUBER, G. W.; IBORRA, S.; CORMA, A. Synthesis of transportation fuels from biomass: chemistry, catalysts and engineering, **Chemical Reviews**, v. 106, p. 4044-408, 2006.

HUIBERS, P. D. T.; LOBANOV, V. S.; KATRITZKY, A. R.; SHAH, D. O.; KARELSON, M. Prediction of critical micelle concentration using a quantitative structure-property relationship approach. 1. Nonionic surfactants. **Langmuir**, v. 12, p. 1462-1470, 1996.

IBGE. **Pesquisa Nacional de Saneamento Básico 2008**. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão, Rio de Janeiro, 2009, 219p.

IARC - INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Monographs: Occupational Exposures in Petroleum Refining Crude Oil and Major Petroleum Fuels**, v. 45, 1989, 20p.

IARC - INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Monographs: Some Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Related Exposures**, v. 92, 2010, 853p.

ITRC – THE INTERSTATE TECHNOLOGY & REGULATORY COUNCIL. **Biofuels: Release Prevention, Environmental Behavior, and Remediation**. Biofuels-1. Washington, D.C.: Interstate Technology & Regulatory Council, Biofuels Team, 2011. Disponível em <www.itrcweb.org>. Acesso em Janq13.

IVEY, G. A. Surfactant enhanced aquifer remediation (SEAR) using Ivey-sol® surfactant technology, in **ENVIRO 2006**, Melbourne, Australia (Enviro 06 Conference & Exhibition), 2006.

JACOBS, P. T.; GEER, R. D.; ANACKER, E. W. A comparison of micellar aggregation numbers as determined by dye solubilization and light scattering. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 39 (3), p. 611-620, 1972.

JOHANSSON, I.; SVENSSON, M. Surfactants based on fatty acids and other natural hydrophobes. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 6, p. 178-188, 2001.

KAIPPER, B. I. A. **Influência do Etanol na Solubilidade de Hidrocarbonetos Aromáticos em Aquíferos Contaminados por Óleo Diesel**. (Tese de Doutorado), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

KALYANASUNDARAM, K.; THOMAS, J. K. Environmental effects on vibronic band intensities in pyrene monomer fluorescent and their application in studies of micellar systems. **Journal of the American Chemical Society**, v. 99 (7), p. 2039-2044, 1977.

KANICKY, J. R.; SHAH, D. O. Effect of degree, type, and position of unsaturation on the pK_a of long-chain fatty acids. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 256, p. 201-207, 2002.

- KARMAKAR, A.; KARMAKAR, S.; MUKHERJEE, S. Properties of various plants and animals feedstocks for biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 7201-7201, 2010.
- KAUR, G.; CHIAPPISI, L.; PRÉVOST, S.; SCHWEINS, R.; GRADZIELSKI, M.; MEHTA, S. K. Probing the microstructure of nonionic microemulsions with ethyl oleate by viscosity, ROESY, DLS, SANS, and cyclic voltammetry. **Langmuir**, v.
- KEITH, L. H.; TELLIARD, W. A. Priority pollutants - a perspective view, **Environmental Science and Technology**, v. 13, n. 4, p. 416-423, 1979.
- KINNEY, A.J.; CLEMENTE, T. E. Modifying soybean oil enhanced performance in biodiesel blends, **Fuel Processing Technology**, v. 86, p. 1137-1147, 2005.
- KHAN, N.; WARITH, M. A.; LUK, G. A comparison of acute toxicity of biodiesel, biodiesel blends, and diesel on aquatic organisms. **Journal of Air and Waste Management Association**, v. 57, p. 286-296, 2007.
- KONIKOW, L.; KENDY, E. Groundwater depletion: a global problem. **Hydrogeology Journal**, v. 13, p. 317-320, 2005.
- KNOTHE, G. Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. **Fuel Processing Technology**, v. 86, p. 1059-1070, 2005b.
- KNOTHE, G. "Designer biodiesel: optimizing fatty ester composition to improve fuel properties. **Energy & Fuels**, v. 22, p. 1358-1364, 2008.
- KNOX, R. C.; SABATINI, D. A. **Transport and Remediation of Subsurface Contaminants**. In Surfactant-enhanced subsurface remediation. ACS Symposium Series, American Chemical Society: Washington, DC, 1992.
- KROP, H. B.; VELZEN, M. J. M.; PARSONS, J. R.; GOVERS, H. A.J. *n*-Octanol water partition coefficients, aqueous solubilities and Henry's law constants of fatty acid esters. **Chemosphere**, v. 34 (1), p. 107-199, 1997.
- KRUGLYAKOV, P. M. **Hydrophile-Lipophile Balance of Surfactants and Solid Particles, Physicochemical Aspects and Applications**. Studies in Interface Science. Möbius, D.; Miller, R (Eds). The Netherlands: Elsevier, v.9, 2000, 391p.
- KUCHKINA, A. Y; GLADYSHEV, M. I; SUSHCHIK, N.N; KRAVCHUK, E.S; KALACHOVA, G.S. Biodiesel production from sediments of a eutrophic reservoir. **Biomass and bioenergy**, v. 35, p. 2280-2284, 2011.
- LAHA, S.; TANSEL, B.; USSAWARUJIKULCHAI, A. Surfactant-soil interactions during surfactant-amended remediation of contaminated soils by hydrophobic organic compounds: a review. **Journal of Environmental Management**, v. 90, p. 95-100, 2009.

LAM, M. K.; LEE, K. T. Accelerating transesterification reactions with biodiesel as co-solvent: a case study for solid acid sulfated tin oxide catalyst. **Fuel**, v. 89, p. 3866-3870, 2010.

LAPINSKIENE, A.; MARTINKUS, P.; REBZDAITE, V. Eco-toxicological studies of diesel and biodiesel fuels in aerated soil. **Environmental Pollution**, v. 142, p. 432-437, 2006.

LEE, L. S.; HAGWALL, M.; DELFINO, J. J.; RAO, P. S. Partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons from diesel fuel into water. **Environmental Science and Technology**, v. 26, p. 2104-2110, 1992.

LEITE, M. B. N. L.; ARAÚJO, M. M. S.; NASCIMENTO, I. A.; CRUZ, A. C. S.; PEREIRA, S. A.; NASCIMENTO, N. C. Toxicity of water-soluble fractions of biodiesel fuels derived from castor oil, palm oil, and waste cooking oil. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 30 (4), p. 893-897, 2011.

LEME, D. M.; GRUMMT, T.; HEINZE, R.; SEHR, A.; SKERSWETT, M.; MARCHI, M. R. R.; MACHADO, M. C.; OLIVEIRA, D. P.; MORALES, M. A. M. Cytotoxicity of water-soluble fraction from biodiesel and its diesel blends to human cell lines. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, p. 2148-2155, 2011.

LEME, D. M.; GRUMMT, T.; OLIVEIRA, D. P.; SEHR, A.; RENZ, S.; REINEL, S.; FERRAZ, E. R. A.; MARCHI, M. R. R.; MACHADO, M. C.; ZOCOLO, G. J.; MORALES, M. A. M. Genotoxicity assessment of water soluble fractions of biodiesel and its diesel blends using *Salmonella* assay and the *in vitro* MicroFlow[®] kit (Litron) assay. **Chemosphere**, v. 86 (5), p. 512-520, 2012.

LI, A.; YALKOWSKY, S. H. Predicting cosolvency. 1. Solubility ratio and solute k_{ow} . **Industrial Engineering Chemical Research**, v. 37, p. 4470-4475, 1998.

LI, J. L.; CHEN, B. H. Solubilization of model polycyclic aromatic hydrocarbons by nonionic surfactants. **Chemical Engineering Science**, v. 57, p. 2825-2835, 2002.

LIBÂNIO, M. **Fundamentos de Qualidade e Tratamento de Água**. Campinas, SP: Editora Átomo, 2005, 444p.

LIDE, D. R. **CRC Handbook of Chemistry and Physics, Internet Version 2005**. <www.hbcnpnetbase.com>, CRC Press, Boca Raton, FL, 2005, 2660p.

LIN, Y. C.; LEE, W. J.; WU, T. S.; WANG, C. T. Comparison of PAH and regulated harmful matter emissions from biodiesel blends and paraffinic fuel blends on engine accumulated mileage test. **Fuel**, v. 85, p. 2516-2523, 2006.

LIN, L.; CUNSHAN, Z.; VITTAYAPADUNG, S.; XIANGQIAN, S.; MINGDONG, D. Opportunities and challenges for biodiesel fuel. **Applied Energy**, v. 88, p. 1020-1031, 2011.

LINKOV, I.; AMES, M. R.; CROUCH, E. A. C.; SATTERSTROM, F. K. Uncertainty in octanol-water partition coefficient: implications for risk assessment and remedial cost. **Environmental Science and Technology**, v. 39 (18), p. 6917-6922, 2005.

LIU, L.; WU, F.; HADERLEIN, S.; GRATHWOHL, P. Determination of the subcooled liquid solubilities of PAHs in partitioning batch experiments. **Geoscience Frontiers** (*in press*), p. 1-4, 2012.

LÔBO, I. P.; FERREIRA, L. C.; CRUZ, R. S. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. **Química Nova**, v. 32 (6), p. 1596-1608, 2009.

LOPES, W. A.; ANDRADE, J. B. Fontes, formação, reatividade e quantificação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) na atmosfera. **Química Nova**, v. 19 (5), p. 497-516, 1996.

MA, Y. G.; LEI, Y. D.; XIAO, H.; WANIA, F.; WANG, W. H. Critical review and recommended values for the physical-chemical property data of 15 polycyclic aromatic hydrocarbons at 25°C. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 55, p. 819-825, 2010.

MACKAY, D. M.; ROBERTS, P. V.; CHERRY, J. A. Transport of organic contaminants in groundwater. **Environmental Science and Technology**, v. 19 (5), p. 384-392, 1985.

MAKAREVICIENE, V.; JANULIS, P. Environmental effect of rapeseed oil ethyl ester. **Renewable Energy**, v. 28 (15), p. 2395-2403, 2003.

MANIASSO, N. Ambientes micelares em química analítica. **Química Nova**, v. 24 (1), p. 87-93, 2001.

MASRAT, R.; MASWAL, M.; DAR, A. A. Competitive solubilization of naphthalene and pyrene in various micellar systems. **Journal of Hazardous Materials**, v. 244-245, p. 662-670, 2013.

MILLER, M. M.; WASLK, S. P.; HUANG, G. L.; SHIU, W. Y.; MACKAY, D. Relationships between octanol-water partition coefficient and aqueous solubility. **Environmental Science and Technology**, v. 19, p. 522-529, 1985.

MILLER, N. J.; MUDGE, S. M. The effect of biodiesel on the rate of removal and weathering characteristics of crude oil within artificial sand column. **Spill Science and Technology Bulletin**, v. 4 (1), p. 17-33, 1997.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria Nº. 2914 de 12 de dezembro de 2011**. Brasília, 2004.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Portaria Nº. 678 de 31 de agosto de 2011**. **Diário Oficial da União** Brasília, Brasília, 2011.

MOGELSON, S.; PIEPER, S. J.; LANGE, L. G. Thermodynamic bases for fatty acid ethyl ester synthase catalyzed esterification of free fatty acid with ethanol and accumulation of fatty acid ethyl esters. **Biochemistry**, v. 23, p. 4082-4087, 1984.

MOHAMED, A.; MAHFOODH, A. S. M. Solubilization of naphthalene and pyrene by sodium dodecyl sulfate (SDS) and polyoxyethylenesorbitan monooleate (Tween 80) mixed micelles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects**, v. 287, p. 44-50, 2006.

MONTEIRO, M. R.; AMBROZIN, A. R. P.; LIÃO, L. M.; FERREIRA, A. G. Critical review on analytical methods for biodiesel characterization. **Talanta**, v. 77, p. 593-605, 2008.

MUKERJEE, P. MYSELS, K. J. **Critical Micelles Concentration of Aqueous Surfactant Systems**. Washington: U.S. Gov. Printing Office, Superintendent of Documents (NSRDS-NBS 36), 1971, 222p.

MULLER, J. B.; MELEGARI, S. P.; MATIAS, W. G. Avaliação da toxicidade aquática da fração solúvel em água do diesel, biodiesel e da mistura binária diesel/biodiesel de 5% (B5), in **XIX Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos**, Maceió-AL, Dez/2012.

MYERS, D. **Surfactant Science and Technology**. 3^o Ed., New Jersey: John Wiley & Sons, 2006, 393p.

MYSELS, K. J.; MUKERJEE, P. Reporting experimental data dealing with critical micellization concentrations (c.m.c's) of aqueous surfactant systems. **Pure & Applied Chemistry**, v. 51, p. 1083-1089, 1979.

NAKAJIMA, A. Fluorescence spectra of anthracene and pyrene in water and in aqueous surfactant solution. **Journal of Luminescence**, v. 15, p. 277-282, 1977.

NETTO, A. D. P.; MOREIRA, J. C.; DIAS, A. E. X. O.; ARBILLA, G.; FERREIRA, L. F. V.; OLIVEIRA, A. S.; BARIK J. Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitrados (NHPAs): uma revisão metodológica. **Química Nova**, v. 23, n. 6, p. 765-773, 2000.

NEWELL, C. J.; ACREE, S. D.; ROSS, R. R.; HULING, S. G. **Ground Water Issue: Light Nonaqueous Phase Liquid**. EPA/540/S-95/500, 1995, 28p.

NHMRC, NRMCC. **Australian Drinking Water Guidelines Paper 6 National Water Quality Management Strategy**. National Health and Medical Research Council, National Resource Management Ministerial Council, Commonwealth of Australia, Canberra, 2011, 1244p.

NOGUEIRA, L.; SANCHES, A. L. M.; SILVA, D. G. H.; FERRIZI, V. C.; MOREIRA, A. B.; ALMEIDA, E. A. Biochemical biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) after short-term exposure to diesel oil, pure biodiesel and biodiesel blends. **Chemosphere**, v. 85, p. 97-105, 2011.

PASQUALINO, J. C.; MONTANÉ, D.; SALVADÓ, J. Synergic effects of biodiesel in the biodegradability of fossil-derived fuels. **Biomass and Energy**, v. 30, p. 874-879, 2006.

PEDROSO, M. F. M.; BARBOSA, E. M.; CORSEUIL, H. X.; SCHNEIDER, M. R.; LINHARES, M. M. **Ecotoxicologia e Avaliação de Risco do Petróleo**. Salvador: Centro e Recursos Ambientais. Série Cadernos de Referência Ambiental, v. 12, 2002, 246p.

PETERSON, C. L.; MÖLLER, G. **Biodiesel Fuels: Biodegradability, Biological and Chemical Oxygen Demand, and Toxicity** in: The biodiesel handbook. Org por Knothe, G.; Gerpen, J. V.; Krahl, J, Champaign, Illinois: AOCS Press, Cap. 6 (6.6), p. 143-158, 2005.

PHILLIPS, J. N.; MYSELS, K. J. Light scattering by aqueous solutions of sodium lauryl sulfate. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 59 (4), p. 325-330, 1955.

POON, R.; CHU, I.; VALLI, V. E.; GRAHAM, L.; YAGMINAS, A.; HOLLEBONE, B.; RIDEOUT, G.; FINGAS, M. Effects of three biodiesels and a low sulfur diesel in male rats - a pilot 4-week oral study. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, p. 1830-1837, 2007.

POWERS, S. E.; HUNT, C. S.; HEERMANN, S. E.; CORSEUIL, H. X.; RICE, D.; ALVAREZ, P. J. J. The transport and fate of ethanol and BTEX in groundwater contaminated by gashol. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 31 (1), p. 79-123, 2001.

PRAK, D. J. L.; PRITCHARD, P. H. Solubilization of polycyclic aromatic hydrocabrons mixtures in micellar nonionic surfactant solutions. **Water Research**, v. 36, p. 3463-3472, 2002.

PREFEITURA MUNICIPAL DE CURITIBA – SECRETÁRIA MUNICIPAL DE MEIO AMBIENTE. Decreto Nº. 1190 de 14 de dezembro de 2004. “**Define para o município de Curitiba os parâmetros de referência para qualidade de solo e água subterrânea**”. Curitiba, 2004.

PRINCE, R. C.; HAITMANEK, C.; LEE, C. C. The primary aerobic biodegradation of biodiesel B20. **Chemosphere**, v. 71, p. 1446-1451, 2008.

RAO, P. S. C.; LEE, L. S.; WOOD, A. L. **Solubility, Sorption and Transport of Hydrophobic Organic Chemicals in Complex Mixtures**. US EPA, EPA/600/M-91/009, 1991, 14p.

RAO, K. J.; PARIJA, S. Solubilization of naphthalene in the presence of plant-synthetic mixed surfactant systems. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 113, p. 474-481, 2009.

RAY, G. B.; CHAKRABORTY, I.; MOULIK, S. P. Pyrene absorption can be a convenient method for probing criticam micellar concentration (cmc) and indexing micellar polarity. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 294, p. 248-254, 2006.

REYES, Y.; ARANDA, D. A. G.; SANTANDER, L. A. M.; CAVADO, A.; BELCHIOR, C. R. P. Action principles of cosolvent additives in ethanol-diesel blends: stability studies. **Energy & Fuels**, v. 23, p. 2731-2735, 2009.

- RIBEIRO, N, M.; PINTO, A. C.; QUINTELLA, C. M.; ROCHA, G. O.; TEIXEIRA, L. S. G.; GUARIEIRO, L. L. N.; RANGEL, M. C.; VELOSO, M. C. C.; REZENDE, M. J. C.; CRUZ, R. S.; OLIVEIRA, A. M.; TORRES, E. A.; ANDRADE, J. B. The role of additives for diesel and diesel blended (ethanol or biodiesel) fuels: a review. **Energy & Fuels**, v. 21, p. 2433-2445, 2007.
- ROMERO, J. S. E.; ALFONSO, E. F. S.; COQUE, M. C. G. A.; RAMOS, G. R. Micellar enhanced spectrophotometric determination of organic species, **Trends in Analytical Chemistry**, v. 14 (1), p.29-36, 1995.
- SABATINI, D. A.; KNOX, R. C.; HARWELL, J. H. **Emerging Technologies in Surfactant-Enhanced Subsurface Remediation**. In Surfactant-enhanced subsurface remediation. ACS Symposium Series, American Chemical Society: Washington, DC, 1995.
- SALES, P. S.; ROSSI, R. H.; FERNÁNDEZ, M. A. Different behaviours in the solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbons in water induced by mixed surfactant solutions. **Chemosphere**, v. 84, p. 1700-1707, 2011.
- SCHLUEP, M.; IMBODEN, D. M.; GÄLLI, R.; ZEYER, J. Mechanisms affecting the dissolution of nonaqueous phase liquids into the aqueous phase in slow-stirring batch systems. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 20 (3), p. 459-466, 2001.
- SCHWARZENBACH, R. P.; GSCHWEND, P. M.; IMBODEN, D. M. **Environmental Organic Chemistry**, 2^o ed. USA, Wiley Interscience - John Wiley & Sons, 2003, 1327p.
- SCHIPPERS, C.; GEßNER, K.; MÜLLER, T.; SCHEPER, T. Microbial degradation of phenanthrene by addition of a sophorolipid mixture. **Journal of Biotechnology**, v. 83, p. 189-198, 2000.
- SCHOTT, H. Solubilization of a water-insoluble dye as a method for determining micellar molecular weights. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 70 (9), p. 2966-2973, 1966.
- SCIORTINO, A. **Impact of New Diesel Fuels Used in Port Operations on Subsurface Quality**. Final Report, METRANS Project AR 06-04. California State University, 2008.
- SELLEY, R. C. **Elements of Petroleum Geology**, New York: Academic Press, 1998, 463p.
- SEITINGER, P.; BAUMGARTNER, A.; SCHINDLBAUER, H. The behaviour of oil spills in soil and groundwater. **Natural Resources and Development**, v. 40, p.69-841, 1994.
- SHAH, T.; MOLDEN, D.; SAKTHIVADIVEL, R.; SECKLER, D. **The Global Groundwater Situation: Overview of Opportunities and Challenges**. Colombo, Sri Lanka: International Water Management Institute, 2000, 22p.

SIKKEMA, J.; BONT, J. A. M.; POOLMAN, B. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. **Microbiological Reviews**, v. 59 (2), p. 201-222, 1995.

SILVA, C. L. M. **Obtenção de Ésteres Etílicos a partir da Transesterificação do Óleo de Andiroba com Etanol**. (Dissertação de Mestrado). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

SILVA, M. L. B.; ALVAREZ, P. J. J. Effects of ethanol versus MTBE on benzene, toluene, ethylbenzene, and xylene natural attenuation in aquifer columns. **Journal of Environmental Engineering**, v. 128 (9), p. 862-867, 2002.

SOBOTKA, H.; KAHN, J. Determination of solubility of sparingly soluble liquids in water. **Journal of the American Chemical Society**, v. 53 (8), p. 2935-2938, 1931.

TANFORD, C. Micelle shape and size. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 76 (21), p. 3020-3023, 1972.

TANFORD, C. Theory of micelle formation in aqueous solutions. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 78 (4), p. 2469-2479, 1974.

TAYLOR, L. T.; JONES, D. M. Bioremediation of coal tar PAH in soils using biodiesel. **Chemosphere**, v. 44, p. 1131-1136, 2001.

TIXIER, J.; PIMENTA, V.; BUHSE, T.; LAVABRE, D.; NAGARAJAN, R.; MICHEAU, J. C. Ester containing aggregates in the autocatalytic biphasic hydrolysis of ethyl alkanoate. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 167, p. 131-142, 2000.

TRIPARTITE TASK FORCE BRAZIL, EUROPEAN UNION & UNITED STATES OF AMERICA. **White Paper on Internationally Compatible Biofuel Standards**, 2007, 94p.

UNESCO. **Groundwater Resources of the World and their Use**. Editado por Zektser, I. S; Everett, L. G. Paris: IHP-VI, Series on Groundwater No. 6, UNESCO, 2004, 342p.

US ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - EPA. **The National LUST Cleanup Backlog: A Study of Opportunities**. US EPA, 2011, 60p. Disponível em <www.epa.gov/oust/>. Acesso em Dez/2011.

US ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - EPA. **Method 3510B – Separatory Funnel Liquid-Liquid Extraction**. EPA, revision 2, 1994, 8p.

VALEUR, B. **Molecular Fluorescence: Principles and Applications**. Federal Republic of Germany: Wiley-VCH, 2002, 399p.

VIANNI, R.; FILHO, R. B. Ácidos graxos naturais: importância e ocorrência em alimentos. **Química Nova**, v. 19 (4), p. 400-407, 1996.

WEDEL, R. V. CytoSol - Cleaning oiled shorelines with a vegetable oil biosolvent. **Spill and Science Technology Bulletin**, v. 6 (5/6), p. 357-359, 2000.

WELLERT, S.; KARG, M.; IMHOF, H.; STEPPIN, A.; ALTMANN, H. J.; DOLLE, M.; RICHARDT, A.; TIERSCH, B.; KOETZ, J.; LAPP, A.; HELLWEG, T. Structure of biodiesel based bicontinuous microemulsions for environmentally compatible decontamination: a small angle neutron scattering and freeze fracture electron microscopy study. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 325, p. 250-258, 2008.

WELLS, P. V. The present status of turbidity measurements. **Chemical Reviews**, v. 3 (4), p. 331-382 (1927).

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for Drinking-Water Quality**, 4th ed. Geneva, Switzerland, 2011, 564p.

WILK, K. A.; LASKA, U.; ZIELINSKA, K.; OLSZOWSKI, A. Fluorescence probe studies upon microenvironment characteristics and aggregation properties of Gemini sugar surfactants in an aquatic environment. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 219, p. 204-210, 2011.

WÜSTNECK, R.; ENDERS, P.; FIEDLER, H. Determination of aggregation numbers and ionization degree of micelles using surface tension isotherms of maleic acid mono{2-(4-alkylpiperazinyl) ethyl esters. **Langmuir**, v. 10, p. 3955-3958, 1994.

YAN, M.; LI, B.; ZHAO, X. Determination of critical aggregation concentration and aggregation number of acid-soluble collagen from walleye Pollock (*Theragra chalcogramma*) skin using the fluorescence probe pyrene. **Food Chemistry**, v. 122, p. 1333-1337, 2010.

YAN, H.; CUI, P.; LIU, C. B.; YUAN, S. L. Molecular dynamics simulation of pyrene solubilized in a sodium dodecyl sulfate micelle. **Langmuir**, v. 28, p. 4931-4938, 2012.

YAP, C. L.; GAN, S.; NG, H. K. Evaluation of solubility of polycyclic aromatic hydrocarbons in ethyl lactate/water versus ethanol/water mixtures for contaminated soil remediation applications. **Journal of Environmental Sciences**, v. 24 (6), p. 1064-1075, 2012.

YEOM, I. T.; GHOSH, M. M.; COX, C. D.; ROBINSON, K. G. Micellar solubilization of polynuclear aromatic hydrocarbons in coal-tar contaminated soils. **Environmental Science and Technology**, v. 29, p. 3015-3021, 1995.

ZHAI, L.; ZHANG, J.; SHI, Q.; CHEN, W.; ZHAO, M. Transition from micelle to vesicle in aqueous mixtures of anionic/zwitterionic surfactants studied by fluorescence, conductivity, and turbidity methods. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 284, p. 698-703, 2005.

ZHAO, B.; ZHU, L.; LI, W.; CHEN, B. Solubilization and biodegradation of phenanthrene in mixed anionic-nonionic surfactant solutions. **Chemosphere**, v. 58, p. 33-40, 2005.

ZHENG, O.; ZHAO, J. X. Solubilization of pyrene in aqueous micellar solutions of gemini surfactants C₁₂-s-C₁₂•2Br. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 300, p. 749-745, 2006.

ZHOU, W.; ZHU, L. Solubilization of pyrene by anionic-nonionic mixed surfactants. **Journal of Hazardous Materials**, v. B109, p. 213-220, 2004.

ZHOU, W.; YANG, J.; LOU, L.; ZHU, L. Solubilization properties of polycyclic aromatic hydrocarbons by saponin, a plant derived biosurfactant. **Environmental Pollution**, v. 159, p. 1198-204, 2011.