



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**



Processo simplificado para obtenção de policosanol a partir de cera de cana-de-açúcar clarificada e purificada

JOENI KEIKO ALVES WADA
ENGENHEIRA DE ALIMENTOS

PROF.º Dr. DANIEL BARRERA-ARELLANO
ORIENTADOR

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Campinas – SP – Brasil
2008

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

W117p Wada, Joeni Keiko Alves
Processo simplificado para obtenção de policosanol a partir
de cera de cana-de-açúcar clarificada e purificada / Joeni Keiko
Alves Wada. – Campinas, SP: [s.n.], 2008.

Orientador: Daniel Barrera-Arellano
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Cera de cana-de-açúcar. 2. Torta de filtro. 3. Álcoois
graxos. 4. Policosanol. 5. *Saccharum officinarum*. I. Barrera-
Arellano, Daniel. II. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

(ckn/fea)

Título em inglês: Simplified process to obtain policosanol from clarified and purified
sugarcane wax

Palavras-chave em inglês (Keywords): Sugarcane wax, Filter cake, Fatty alcohols,
Policosanol, *Saccharum officinarum*

Titulação: Mestre em Tecnologia de Alimentos

Banca examinadora: Daniel Barrera-Arellano

Jane Mara Block

Lireny Aparecida Guaraldo Gonçalves

Eliete Malfatti Serra Scavariello

Data de defesa: 26-02-2008

Programa de Pós-Graduação: Programa em Tecnologia de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Daniel Barrera-Arellano
(Orientador)

Prof^a. Dr^a. Jane Mara Block
(Membro)

Prof^a. Dr^a. Lireny Aparecida Guaraldo Gonçalves
(Membro)

Dr^a. Eliete Malfatti Serra Scavariello
(Membro)

Dedico este trabalho a Deus e à minha família,
meus queridos pais, Jorge e Erani
e aos meus irmãos, Jorge K. e Joyce,
pelo carinho, pela paciência, pelo incentivo e apoio
durante o período do mestrado e em todos os momentos de minha vida.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Daniel Barrera-Arellano não só pela orientação deste trabalho, mas especialmente pela oportunidade e confiança;

Ao Prof. Dr. Renato Grimaldi e à Prof^a. Dr^a. Lireny Ap. Gonçalves pela ajuda e sugestões durante a realização do trabalho e pela amizade;

Às professoras membros da banca: Jane Mara Block, Eliete Malfatti Serra Scavariello e Lireny Ap. Gonçalves pela colaboração com as correções e sugestões muito importantes para o aprimoramento deste trabalho;

Aos técnicos, estagiários e amigos do Laboratório de Óleos e Gorduras - DTA- FEA, em especial à Andréa (companheira neste trabalho), Denise, Jú, Kelly, Cláudia, Rosana;

Aos meus pais, Jorge e Erani, pelas constantes demonstrações de apoio, força e amor e ao meu querido irmão, Jorge K, pelo grande incentivo e ajuda;

À minha inseparável irmã Joyce, pelo companheirismo, amor e paciência;

A todos os meus amigos de Rio Claro e da Graduação em especial à Carolina, Mariana, Vivian, Juliana C., Juliana B. e Prescyla pela amizade e por estarem sempre presentes torcendo pelo meu sucesso;

A todos os funcionários da FEA e também da Unicamp que de alguma forma, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho;

Ao Cnpq, pela concessão da bolsa de mestrado;

Enfim, a todas as pessoas que me ajudaram na realização deste trabalho.

*“ Se eu pudesse deixar algum presente a você,
deixaria aceso o sentimento de amor à vida dos seres humanos.
A consciência de aprender tudo o que nos foi ensinado pelo tempo afora.
Lembraria os erros que foram cometidos, como sinais para que não mais se repetissem.
A capacidade de escolher novos rumos.
Deixaria para você, se pudesse, o respeito à aquilo que é indispensável:
além do pão, o trabalho e a ação.
E, quando tudo mais faltasse para você, eu deixaria, se pudesse, um segredo.
O de buscar o interior de si mesmo, a resposta para encontrar a saída.”*

Mahatma Ghandi

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 Cana-de-açúcar	3
2.1.1 Processamento da cana-de-açúcar	5
2.1.2 Torta de Filtro.....	7
2.2 Ceras: funções e aplicações	9
2.2.1 Potencial de produção de cera de cana-de-açúcar	10
2.2.2 Cera de cana-de-açúcar.....	11
2.2.3 Frações da cera de cana-de-açúcar	12
2.2.4 Propriedades físico-químicas da cera	15
2.2.5 Extração.....	17
2.2.6 Purificação	18
2.2.7 Clarificação	19
2.3 Álcoois Graxos.....	20
2.3.1 Aplicações dos álcoois graxos	21
2.3.2 Álcoois graxos de cadeia longa.....	21
2.3.2.1 Policosanol.....	24
2.3.2.1.1 Policosanol e o efeito redutor de colesterol.....	25
2.3.2.1.2 Policosanol e propriedades anti-agregatórias	30
2.3.2.1.3 Policosanol e performance atlética	31
2.3.2.1.4 Policosanol e mecanismo citoprotetor.....	32
2.3.2.1.5 Policosanol e toxicidade	34
2.3.2.2 Obtenção de policosanol de cera de cana-de-açúcar	35
3. MATERIAL, MÉTODOS E PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	39
3.1 Material.....	39
3.1.1 Matéria-prima.....	39
3.1.2 Reagentes, solventes e padrões	39
3.1.3 Equipamentos	39
3.2 Métodos.....	40
3.2.1 Caracterização físico-química da cera clarificada e purificada	40
3.2.1.1 Índice de acidez	40
3.2.1.2 Índice de saponificação	41
3.2.1.3 Índice de iodo.....	41

3.2.1.4	Teor de matéria insaponificável	42
3.2.1.5	Ponto de fusão por capilar aberto	43
3.2.1.6	Teste de Consistência (Penetração).....	43
3.2.1.7	Composição em ácidos graxos.....	43
3.2.1.8	Teor e composição em álcoois graxos.....	44
3.3	Procedimento Experimental	45
3.3.1	Caracterização da matéria-prima (cera clarificada e purificada)	45
3.3.2	Estudo detalhado das condições do processo de obtenção do policosanol.....	45
3.3.2.1	Saponificação	46
3.3.2.2	Estudo do processo de extração do policosanol.....	47
3.3.2.2.1	Adaptação do processo proposto por Rozário (2006)	47
3.3.2.2.2	Alterações do processo proposto por Rozário (2006)	48
3.3.2.2.2.1	Modificações da concentração e número de extrações da solução salina e aumento da relação cera saponificada: etanol na extração	48
3.3.2.2.2.2	Substituição do processo de extração com álcool a quente para álcool a frio.....	49
3.3.2.2.2.3	Substituição da extração com solução salina.....	53
3.3.2.2.2.4	Eliminação da etapa de extração com solução salina/etanol/água, utilizando apenas extração com etanol.....	55
3.3.2.3	Processo simplificado de extração e purificação do policosanol	56
3.3.2.3.1	Determinação das condições de operação do processo selecionado para obtenção de “policosanol 50”.....	56
3.3.2.3.2	Estudo do processo de obtenção de “policosanol 90”	57
3.3.2.4	Escalonamento pré-piloto	58
3.3.2.4.1	Obtenção de “policosanol 50”	58
3.3.2.4.2	Obtenção de “policosanol 90”	59
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
4.1	Caracterização e composição da cera clarificada e purificada de cana-de-açúcar	61
4.1.1	Características físico-químicas da cera	61
4.1.2	Composição em ácidos e álcoois graxos da cera.....	64
4.1.3	Cálculo do teor de álcoois graxos.....	69
4.1.3.1	Estudo do fator de resposta dos álcoois graxos ao detector	69
4.1.3.2	Teor de álcoois graxos da cera clarificada e purificada	71

4.2 Estudo detalhado das condições do processo de obtenção de policosanol	72
4.2.1 Saponificação.....	72
4.2.2 Estudo do processo de extração do policosanol.....	74
4.2.2.1 Adaptação do processo proposto por Rozário (2006): Teste 1	74
4.2.2.2 Alterações do processo proposto por Rozário (2006)	75
4.2.2.2.1 Modificações da concentração e número de extrações da solução salina e aumento da relação cera saponificada:etanol na extração	75
4.2.2.2.2 Substituição do processo de extração com álcool a quente para álcool a frio	78
4.2.2.2.3 Substituição da extração com solução salina.....	82
4.2.2.2.4 Eliminação da etapa de extração com solução salina/etanol/água, utilizando apenas extração com etanol.....	83
4.2.3 Processo simplificado de extração e purificação do policosanol.....	86
4.2.3.1 Determinação das condições de operação do processo selecionado para obtenção de “policosanol 50”	86
4.2.3.2 Estudo do processo de obtenção de “policosanol 90”.....	87
4.2.4 Escalonamento pré-piloto.....	91
5. CONCLUSÕES.....	93
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Comparativo de área, produtividade e produção de cana-de-açúcar das safras 2006/2007 e 2007/2008.	4
Tabela 2. Estimativa de produção e destinação da safra 2007/2008 de cana-de-açúcar.....	4
Tabela 3. Quantidade de produtos e subprodutos do processamento da cana.....	7
Tabela 4. Composição da torta de filtro.	8
Tabela 5. Quantidade produzida de cera de carnaúba e cera de abelha no Brasil.	11
Tabela 6. Características físico-químicas das frações obtidas a partir da cera de cana-de-açúcar.	14
Tabela 7. Propriedades físico-químicas da cera de cana-de-açúcar.....	17
Tabela 8. Álcoois graxos presentes em diferentes ceras naturais.	22
Tabela 9. Composição (%) em álcoois graxos de ceras de cana-de-açúcar bruta e purificada.	23
Tabela 10. Teor de álcoois graxos de ceras de cana-de-açúcar.....	25
Tabela 11. Relação de cera saponificada: etanol (p/v) e número de extrações dos 10 ensaios testados para obtenção de “policosanol 50”.....	57
Tabela 12. Características físico-químicas da cera de cana-de-açúcar clarificada e purificada.	61
Tabela 13. Composição (%) em ácidos graxos da cera de cana-de-açúcar clarificada e purificada.	66
Tabela 14. Composição (%) em ácidos graxos da cera de cana-de-açúcar orgânica.	67
Tabela 15. Composição (%) em álcoois graxos da cera de cana-de-açúcar clarificada e purificada.	68
Tabela 16. Composição (%) em álcoois graxos da cera de cana-de-açúcar orgânica.	68

Tabela 17. Concentrações conhecidas do padrão interno e octacosanol.	69
Tabela 18. Rendimento (%) e teor de álcoois (%) dos produtos obtidos no Teste 5 (Extração com solução salina e 2 extrações com etanol a frio na relação 1:10).	79
Tabela 19. Rendimento (%) e teor de álcoois (%) dos produtos obtidos no Teste 6 (Extrações (3) com solução salina e 1 extração com etanol a frio na relação 1:10).	80
Tabela 20. Rendimento (%) e teor de álcoois (%) dos produtos obtidos no Teste 7 (Extração com solução salina 15% e 2 extrações com etanol a frio na relação 1:20)	80
Tabela 21. Tabela comparativa do teor de álcoois graxos obtidos nos testes que envolviam o uso de extração com etanol a frio.	81
Tabela 22. Rendimento (%) e teor de álcoois (%) dos produtos obtidos no Teste 10 (extração com água quente).....	83
Tabela 23. Teor de álcoois (%) dos ensaios 1 a 10 das frações solúvel (policosanol) e insolúvel (sais de ácidos graxos) em etanol.....	87
Tabela 24. Teor de álcoois graxos nas frações obtidas após extrações do policosanol 50 com acetona.....	88
Tabela 25. Composição em álcoois graxos do “policosanol 90”, obtido após purificação com acetona e a composição e especificação do Lestanol utilizado como padrão.	89
Tabela 26. Rendimento (%) e teor de álcoois (%) dos produtos obtidos após o teste pré-piloto.	92
Tabela 27. Composição em álcoois graxos (%) do policosanol obtido através da purificação com acetona e a composição e especificação do Lestanol utilizado como padrão.	92

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma do processo de separação dos álcoois graxos de cera purificada saponificada, para a obtenção do “policosanol 50”, conforme metodologia proposta por Rozário (2006).	37
Figura 2. Etapas realizadas para obtenção de policosanol.....	46
Figura 3. Fluxograma para a obtenção do policosanol, adaptado de Rozário (2006).	48
Figura 4. Fluxograma da extração com solução salina e com etanol a frio para obtenção de policosanol.....	50
Figura 5. Fluxograma de extração com solução salina e etanol (1:1) seguida da extração com etanol a frio, para obtenção de policosanol.....	52
Figura 6. Fluxograma da extração com água:etanol seguido da extração com álcool a frio, para a obtenção do policosanol.	54
Figura 7. Fluxograma da extração com etanol a frio para obtenção de policosanol.	55
Figura 8. Fluxograma da extração com etanol a quente para obtenção do policosanol.....	56
Figura 9. Fluxograma do processo de extração com etanol a quente para obtenção de “policosanol 50”, seguido da extração com acetona para obtenção do “policosanol 90”.	58
Figura 10. Fluxograma do processo de obtenção de “policosanol 50” e “policosanol 90” em planta piloto.	60
Figura 11. Cromatograma de ácidos e álcoois graxos da cera purificada e clarificada. 1:ácido palmítico (C16:0); 2: ácido linolênico (C18:3); 3: ácido oléico e linoléico (18:1 e C18:2); 4: ácido esteárico (C18:0); 5: ácido icosanóico (C20:0); 6: ácido docosanóico (C22:0); 7: ácido tetracosanóico (24:0); 8:ácido hexacosanóico (C26:0); 9: ácido octacosanóico (C28:0); 10: ácido triacontanóico (C30:0); 11: ácido dotriacontanóico (C32:0); A: tetracosanol (24C); B: hexacosanol (C26); C: heptacosanol (C27); D: octacosanol (C28); E: triacontanol (30); F: dotriacontanol (C32); NI: não identificados.	65
Figura 12. Curva de calibração do Octacosanol. Equação: $\text{Área}_{\text{pico}} = 69,502 \times \text{Concentração}_{\text{C28}} + 5,1225 / R^2 = 0,9907$	69
Figura 13. Cromatogramas para cálculo do fator de resposta ao detector. 1: Padrão interno Cetoestearílico 1: C16:0-OH; 2: C18:0-OH.	70

Figura 14. Cromatograma dos ácidos e álcoois graxos da cera purificada e clarificada. PI: Padrão interno; A:ácido palmítico (C16:0); B: ácido linolênico (C18:3); ácido oléico e linoléico (18:1 e C18:2) e ácido esteárico (C18:0); C: ácido icosanóico (C20:0); D: ácido docosanóico (C22:0); E: ácido tetracosanóico (24:0); F:ácido hexacosanóico (C26:0); G: ácido octacosanóico (C28:0); H: ácido triacontanóico (C30:0); I: ácido dotriacontanóico (C32:0); 1: tetracosanol (24C); 2: hexacosanol (C26); 3: heptacosanol (C27); 4: octacosanol (C28); 5: triacontanol (C30); 6: dotriacontanol; NI: não identificados. 71

Figura 15. Cromatograma dos álcoois graxos da cera clarificada, purificada e saponificada. PI: padrão interno; 1: tetracosanol (24C); 2: hexacosanol (C26); 3: heptacosanol (C27); 4: octacosanol (C28); 5: triacontanol (C30); 6: dotriacontanol (C32). 73

Figura 16. (a) Cera clarificada e purificada (b) Cera clarificada, purificada e saponificada. ... 74

Figura 17. Cromatograma da fração solúvel em etanol (álcoois graxos) do teste 12. PI: padrão interno; 1: tetracosanol (24C); 2: hexacosanol (C26); 3: heptacosanol (C27); 4: octacosanol (C28); 5: triacontanol (C30); 6: dotriacontanol (C32). 85

Figura 18. Cromatograma da fração insolúvel em etanol (ácidos graxos) do teste 12. PI: padrão interno; 1: octacosanol (C28); A:ácido palmítico (C16:0); B: ácido linolênico (C18:3); ácido oléico e linoléico (18:1 e C18:2) e ácido esteárico (C18:0); C: ácido icosanóico (C20:0); D: ácido docosanóico (C22:0); E: ácido tetracosanóico (24:0); F:ácido hexacosanóico (C26:0); G: ácido octacosanóico (C28:0); H: ácido triacontanóico (C30:0); I: ácido dotriacontanóico (C32:0); NI: não identificados. 85

Figura 19. Cromatograma dos álcoois graxos do “policosanol 90”. PI: padrão interno; 1: tetracosanol (24C); 2: hexacosanol (C26); 3: heptacosanol (C27); 4: octacosanol (C28); 5: triacontanol (C30); 6: dotriacontanol (C32). 90

Figura 20. Cromatograma dos álcoois graxos do Lestanol. 1: tetracosanol (24C); 2: hexacosanol (C26); 3: heptacosanol (C27); 4: octacosanol (C28); 5: triacontanol (C30); 6: dotriacontanol (C32). 90

Lista de abreviaturas e Siglas

CG	Cromatografia gasosa
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
FID	Detector de ionização de chama
HDL	Lipoproteína de alta densidade
IA	Índice de acidez
II	Índice de iodo
IS	Índice de saponificação
ICIDCA	Instituto Cubano de Pesquisa dos Derivados de Cana de Açúcar
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MI	Teor de matéria insaponificável
PF	Ponto de fusão
SPAEE	Secretaria de Produção e Agroenergia

RESUMO

A cera de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*), consiste em uma mistura de ésteres de cera, triacilgliceróis, ácidos e álcoois graxos; e é obtida a partir da torta de filtro, um sub-produto nas indústrias processadoras de cana. Sendo o Brasil o maior produtor de cana-de-açúcar e maior exportador de açúcar do mundo, a quantidade de torta de filtro disponível para a produção de cera é bastante elevada. Desta maneira, a sua utilização contribuirá para o aproveitamento de um sub-produto na obtenção de um produto de alto valor agregado, as ceras. Além de possuir propriedades importantes para o uso em diversos setores da indústria, a cera de cana-de-açúcar constitui-se em uma importante fonte de álcoois graxos de cadeia longa, denominado “policosanol”, o qual apresentou, em vários estudos, efeito hipocolesterolêmico, anti-plaquetário e anti-trombótico. Este projeto teve como objetivo principal a obtenção e purificação da fração de álcoois graxos de cadeia longa, através de um processo simplificado: (1) saponificação da cera de cana-de-açúcar clarificada e purificada; (2) extração com etanol anidro a quente para obtenção de “policosanol 50” e (3) purificação com acetona, para obtenção de “policosanol 90”. As condições para a reação de saponificação da cera clarificada e purificada de cana-de-açúcar foram: relação cera:solução hidro-alcoólica de NaOH 2M de 1:1 (p/v); temperatura de 80°C e tempo de 15 minutos. O processo de extração com etanol a quente, utilizando a relação cera saponificada: etanol de 1:5 (p/v) a 73°C/1hora, permitiu a obtenção de um produto com 50% de álcoois e rendimento de 38% em relação à cera clarificada e purificada. A purificação do “policosanol 50” com acetona (relação “policosanol 50”:acetona de 1:10 (p/v) sob refluxo/30 min, seguido da filtração a quente), permitiu obter um produto com 90% de álcoois e rendimento de 17,4%.

Palavras-chave: Cera de cana-de-açúcar, torta de filtro, álcoois graxos, policosanol, *Saccharum officinarum*.

ABSTRACT

Sugarcane wax (*Saccharum officinarum*) consists of a mixture of wax esters, triglycerides, fatty acids and fatty alcohols, and is obtained from sugarcane filter cake, a by-product of the sugar and alcohol industry. Being Brazil the greatest sugarcane producer and sugar exporting country, the amount of available filter cake for wax production is sufficiently high. Thus, the use of sugarcane filter cake will contribute for the utilization of a by-product in order to obtain a high value added products, the waxes. Besides its important properties which are applied in different industry sectors, the sugarcane wax is the important source of long chain fatty alcohols, called "policosanol", which have demonstrated in several studies, cholesterol-reducing, anti-platelet and anti-trombotic effects. The main objective of this project was to study the obtaining and purification process of the long chain fatty alcohol fraction, using a simplified method: (1) saponification of the clarified and purified sugarcane wax; (2) extraction with hot anhydrous ethanol to obtain the product called "policosanol 50" and (3) purification with acetone to obtain the product called "policosanol 90". The conditions for the saponification reaction of the clarified and purified sugarcane wax were: wax proportion: NaOH hydro-alcoholic solution of 2M of 1:1(w:v); temperature of 80°C/15 minutes. The extraction process with hot ethanol, using the saponified wax proportion: ethanol of 1:5 (w:v) at 73°C/1hour, allowed to obtain a 50% alcohols and 38% yield product comparing to the clarified and purified wax. The purification of the "policosanol 50" with acetone extraction (proportion "policosanol 50": acetone of 1:10 (w/v) with 30min reflux, followed by a hot filtration), allowed to obtain a 90% alcohols and 17.4% yield product.

Key words: sugarcane wax, filter cake, fatty alcohols, policosanol, *Saccharum officinarum*.

1. INTRODUÇÃO

O cultivo da cana-de-açúcar no Brasil representa uma atividade agrícola importante, uma vez que é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo e também é o maior exportador mundial de açúcar. A cana-de-açúcar é matéria-prima de grande flexibilidade, pois além da importância nas indústrias de açúcar e álcool, esta planta constitui a base de produção de subprodutos como bagaço, melaço, resíduos da colheita e torta de filtro (LUTZ et al., 1998).

A torta de filtro, gerada no processamento de açúcar e álcool, é espalhada nos campos de cultivo de cana como fertilizante (GANDRA, 2006). Porém, antes de ser direcionada para este fim, a cera contida na torta de filtro poderá ser recuperada através da extração com solvente (PATURAU, 1969).

O termo cera é normalmente usado como referência a uma mistura de compostos apolares de cadeia longa podendo constituir uma ampla gama de diferentes classes químicas, incluindo hidrocarbonetos, ésteres de cera, ésteres de esteróis, cetonas, aldeídos, álcoois graxos, ácidos graxos e esteróis (WARTH, 1947; LI & PARISH, 1998; O'KEEFE, 1998; PERKINS, 1993).

Por apresentarem em sua composição álcoois graxos de cadeia longa, algumas ceras são utilizadas como matéria-prima na indústria farmacêutica. Ceras, como a de arroz, carnaúba, abelha, cana-de-açúcar e gémem de trigo, apresentam álcoois graxos de 24 a 36 carbonos em sua composição (STUCHLIK & ZAK, 2002). A mistura desses álcoois graxos de cadeia longa é chamada policosanol.

A cera de cana-de-açúcar é uma importante fonte de policosanol, já que apresentou em diversos estudos (GANDRA, 2006; ROZÁRIO, 2006 e VIEIRA, 2003) teores de álcoois graxos de cadeia longa entre 12 a 23% (cera bruta) e teores de 20 a 40% após diferentes processos de purificação (cera purificada).

Em vários estudos clínicos e com animais, o policosanol reduziu os níveis de LDL

colesterol e o colesterol total e aumentou os níveis de HDL colesterol (PEPPING, 2003; BENÍTEZ et al., 1997; CANETTI et al., 1997; TAYLOR, RAPPORT, LOCKWOOD, 2003). Além do efeito hipocolesterolêmico, o policosanol inibe a agregação das plaquetas, evitando assim trombozes e isquemias cerebrais (TAYLOR, RAPPORT, LOCKWOOD, 2003). Portanto, o policosanol, além de apresentar benefícios para a saúde humana, constitui um produto de alto valor agregado, produzido a partir de um sub-produto das indústrias processadoras de cana-de-açúcar.

Apesar de, atualmente, não haver produção de cera proveniente de cana-de-açúcar no Brasil, está em processo de montagem a primeira planta produtora de cera de cana-de-açúcar em grande escala no Brasil e no mundo, programada para iniciar a produção em 2010 com uma capacidade instalada de 2700 ton/ano (BARRERA-ARELLANO, 2007).

O objetivo deste trabalho foi obter policosanol a partir de cera de cana-de-açúcar clarificada e purificada, mediante um processo simplificado, aplicado em uma matéria-prima (cera) que estará disponível no mercado na forma clarificada e purificada.

Os objetivos específicos do trabalho foram:

- Caracterização da matéria-prima (cera de cana-de-açúcar clarificada e purificada);
- Estudo detalhado das condições do processo de obtenção de policosanol que incluem as seguintes etapas:
 - Saponificação da cera de cana-de-açúcar clarificada e purificada;
 - Extração e purificação do policosanol;
 - Escalonamento do processo pré-piloto.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar (*Saccharum* ssp.) pertence à família Gramineae (Poaceae), e é considerada originária do sudeste Asiático na grande região central da Nova Guiné e Indonésia (DANIELS & ROACH, 1987). O cultivo da cana-de-açúcar no Brasil representa uma atividade agrícola importante e teve início com a colonização portuguesa, sendo uma das primeiras culturas introduzidas no país com fins lucrativos (LUCCHESI, 1995). O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo e também é o maior exportador mundial de açúcar. Em 2006 a produção de cana-de-açúcar atingiu 455 milhões de toneladas e espera-se, em 2007 uma safra superior aos 510 milhões de toneladas, representando um aumento de aproximadamente 13% (IBGE, 2007).

A cana-de-açúcar é uma cultura de grande valor econômico para o país, pois, além de ser utilizada para a produção de açúcar para o consumo interno e exportação, é utilizada também para a produção de álcool, que representa uma alternativa valiosa como substituto da gasolina derivada do petróleo (QUINTELA et al., 1997).

A Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB, por solicitação da Secretaria de Produção e Agroenergia - SPAE, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, efetuou o segundo levantamento da safra nacional de cana-de-açúcar 2007/2008 e sua destinação (açúcar, álcool e outros). A Tabela 1 apresenta a área cultivada, a produtividade e a produção das safras de cana-de-açúcar de 2006/2007 e a estimativa para 2007/2008.

Tabela 1. Comparativo de área, produtividade e produção de cana-de-açúcar das safras 2006/2007 e 2007/2008.

Região	Área (em mil ha)		Produtividade (em kg/ha)		Produção (em mil t)	
	Safra 06/07	Safra 07/08	Safra 06/07	Safra 07/08	Safra 06/07	Safra 07/08
Norte	19,8	22,1	63.732	66.932	1.261,9	1.477,2
Nordeste	1.123,4	1.205,7	55.954	59.407	62.860,3	71.625,4
Centro-Oeste	604,5	723,4	75.219	76.666	45.473,0	55.461,1
Sudeste	3.928,2	4.370,2	83.806	84.829	329.204,2	370.721,8
Sul	487,3	602,0	73.879	79.566	36.001,0	47.895,6
Brasil	6.163,2	6.923,4	77.038	79.034	474.800,4	547.181,1

Fonte: CONAB – 2º Levantamento: Agosto de 2007.

A produção nacional de cana-de-açúcar destinada ao setor sucroalcooleiro e a outros fins é de 547,2 milhões de toneladas, superior à safra anterior em 15,20% (72,38 milhões de toneladas). Desse total, a indústria sucroalcooleira esmagará 86,47% (473,16 milhões de toneladas) e o restante (13,53%) será destinado à fabricação de cachaça, à alimentação animal, ao plantio de sementes e a outros fins (CONAB -2º Levantamento agosto 2007).

A área ocupada com esta cultura é de 6,92 milhões de hectares na safra de 2007/2008, superior em 12,30% à safra anterior. Deste total, 82,27% estão na região Centro-Sul e 17,73% na região Norte/Nordeste. Estima-se para a safra 2007/2008 uma produtividade média de 79.034 kg/ha, superior à safra 2006/07 em 2,6% (CONAB -2º Levantamento agosto 2007).

A Tabela 2 apresenta o destino da cana-de-açúcar, mostrando os dados do total de cana que deverá ser utilizada para a produção de açúcar e de álcool.

Tabela 2. Estimativa de produção e destinação da safra 2007/2008 de cana-de-açúcar.

Região	Cana-de-açúcar a ser esmagada (mil t)		
	Total	Açúcar	Álcool
Norte	1.187,0	225,2	961,8
Nordeste	59.514,9	35.849,8	23.665,1
Centro-Oeste	48.679,4	17.362,4	31.317,0
Sudeste	321.933,5	147.922,2	174.011,2
Sul	41.843,1	20.630,2	21.212,9
Brasil	473.158,0	221.989,8	251.168,1

Fonte: CONAB – 2º Levantamento: Agosto de 2007.

A estimativa da produção nacional de cana-de-açúcar destinada à indústria sucroalcooleira é de 473,16 milhões de toneladas, das quais 46,92% (221,99 milhões) serão destinadas à fabricação de açúcar e 53,08% (251,17 milhões) para a produção de álcool. Quando comparada à safra de 2006/07, verifica-se um crescimento de 11,1% (47,2 milhões). As regiões Norte/Nordeste apresentaram um crescimento de 6% em relação à safra anterior, devido, principalmente, às boas condições climáticas. As regiões Centro-Sul apresentaram um crescimento de 11,9% em função de ajustes na área e na produtividade (CONAB -2º Levantamento agosto 2007).

2.1.1 Processamento da cana-de-açúcar

O transporte da cana do campo à usina é feito por caminhões que carregam a cana inteira (colheita manual) ou cana picada em toletes de 20 a 25 cm (colheita mecânica). Nas usinas, as mesas alimentadoras recebem a cana do estoque ou diretamente dos caminhões, que é transferida para as esteiras chegando até as moendas. Nas mesas alimentadoras é feita a lavagem da cana inteira para eliminar matérias estranhas e abrasivas como terra, areia, etc., visando a obtenção de um caldo de melhor qualidade e aumento da vida útil dos equipamentos, pela redução do seu desgaste. A cana é preparada para aumentar a densidade e, conseqüentemente a capacidade de moagem, bem como realizar o máximo rompimento das células para liberação mais fácil do caldo nela contido, obtendo-se assim uma maior extração. O preparo é feito por facas no desintegrador. Após o preparo é feita a moagem da cana com o objetivo de se extrair a maior quantidade possível do caldo, pois é nele que se encontra o açúcar (PULZATTO, 1995).

No primeiro terno de moagem (a moenda apresenta geralmente entre 5 a 7 ternos de moagem) ocorre a maior parte da extração; o caldo primário apresenta de 18 a 22ºBrix. A cana tem aproximadamente 7 partes de caldo para cada parte de fibra; após a extração no primeiro terno esta proporção cai para 2 a 2,5 vezes, havendo necessidade de utilizar a embebição com água nas próximas unidades para diluir o caldo remanescente no bagaço possibilitando assim a

extração da sacarose (COPERSUCAR, 1988).

Devido à água de embebição o caldo misto apresenta de 14 a 16°Brix, é opaco de cor amarela/parda para esverdeada. A opacidade é devido a colóides, proteínas, pentosanas, pectina e compostos inorgânicos como a sílica (LEME Jr. & BORGES, 1965).

Os processos básicos de purificação estão baseados no peneiramento inicial do caldo misto e numa clarificação posterior utilizando-se de reagentes químicos e do efeito da temperatura.

No peneiramento eliminam-se impurezas grosseiras em suspensão (areia, argila, bagacilho, etc.) que se apresentam na proporção de 0,1 a 1%. Este tratamento aumenta a eficiência e a vida útil dos equipamentos, contribuindo para a obtenção de produtos finais de melhor qualidade. Para esta operação, além das peneiras, são usados equipamentos como separadores de areia, “cush-cush” ou hidrociclones (COPERSUCAR, 1988).

Eliminadas as impurezas em suspensão restam ainda no caldo as impurezas solúveis e para isto é feito o tratamento químico (sulfitação e calagem). Esse tratamento tem por objetivo a obtenção de um caldo claro e límpido, mediante a coagulação, floculação e precipitação máxima dos colóides formados, que são eliminados por sedimentação e filtração (MEADE, 1967;COPERSUCAR, 1988).

O lodo obtido na decantação é enviado para o filtro rotativo para recuperação de caldo residual. Da filtração resultam o caldo claro e o turvo que são recolhidos e retornados à fase de calagem; a torta do filtro rotativo é enviada ao campo para servir de adubo (LEME Jr. & BORGES, 1965; DELGADO & CESAR, 1977;COPERSUCAR, 1988).

A utilização das tortas de filtro está relacionada à diminuição do descarte de materiais e ao aproveitamento de um sub-produto. Em geral, a torta de filtro é simplesmente espalhada sobre o campo de cultivo de cana-de-açúcar como fertilizante. No entanto, a torta de filtro, pode ser utilizada para a obtenção de cera, um produto de maior valor agregado.

2.1.2 Torta de Filtro

Da colheita da cana e do seu processamento industrial é possível obter 8 produtos e sub-produtos, que constituem matéria-prima para a indústria de transformação, química e bioquímica, os quais, por sua vez, permitem obter mais de cem produtos de valor comercial. A utilização dos produtos e subprodutos da cana permite um desenvolvimento dentro de um ciclo fechado de aproveitamento integral, que abrange até os resíduos, utilizando-se estes de forma tal que não prejudiquem o meio ambiente e ao mesmo tempo tenham utilidade econômica (TAUPIER, 1999).

A Tabela 3 mostra os produtos e subprodutos resultantes do processamento de cana-de-açúcar.

Tabela 3. Quantidade de produtos e subprodutos do processamento da cana.

Quantidade de cana (t)		Quantidade de produtos e subprodutos (t)	
117	17	9	Resíduos na colheita
	Resíduos	8	Resíduos no centro de limpeza
	100	11	Açúcar
		28	Bagaço
		3	Melaço
		3	Torta de filtro
		1	Cinza
Cana	54	Efluentes líquidos	

Fonte: Taupier (1999).

A torta de filtro pode ser definida como o resíduo que se elimina no processo de clarificação do caldo da cana, durante a fabricação de açúcar. O resíduo que se obtém por sedimentação do suco suspenso e submetido posteriormente à filtração é denominado torta primária e o resíduo que se descarrega nos filtros para ser rejeitado é a torta final. A sua constituição depende de vários fatores: tipo de solo, variedade da cana, tipo de colheita, grau de extração do suco, quantidade de cal e outros produtos usados na clarificação, métodos de filtração empregados, tamanho dos furos dos coadores do caldo e outros (AGUILERA & RUIZ,

1999).

A Tabela 4 apresenta a composição da torta final de usinas açucareiras, segundos estudos realizados pelo ICIDCA (Instituto Cubano de Pesquisa dos Derivados de Cana de Açúcar).

Tabela 4. Composição da torta de filtro.

Componentes	Base seca(%)
Proteína crua	12-16
Lipídios (Cera, óleos e resinas)	10-14
Cinza	8-12
P ₂ O ₅	3-5
Cal	2,5-5
Sacarose e açúcares redutores	10-14
Bagacilho	18-25
Outros	25-35

Fonte: Aguilera & Ruiz, (1999).

Os componentes químicos da torta mostram variações, de acordo com o lugar e as condições de obtenção, porém de modo geral, é possível observar que a torta de filtro contém grande quantidade de nitrogênio, fósforo e outros elementos (AGUILERA & RUIZ, 1999).

O nitrogênio se apresenta em forma de proteínas e outras formas amoniacais mais simples ou em forma nítrica. O fósforo aparece em combinações orgânicas complexas como fosfolipídios e nucleoproteínas e, às vezes, em forma de fosfato de cálcio proveniente da clarificação do suco. Quando a torta se degrada microbiologicamente, a sua concentração de nitrogênio varia, enquanto que no cálcio e no fósforo essas mudanças não são apreciáveis (AGUILERA & RUIZ, 1999).

Segundo Adamenas (1982), a utilização da torta como adubo é prática tradicional nas usinas. Se este material ficasse livre das gorduras e ceras, a absorção dos nutrientes pelas plantas seria facilitada, pois o apodrecimento do material orgânico ocorreria mais rápido. Caso o processo de extração modificasse as propriedades da torta de filtro como adubo, a aplicação

dessa matéria-prima como combustível resultaria em vantagens: as cinzas, muito ricas em sais de potássio, também serviriam de adubo.

A utilização mais difundida da torta de filtro é como fertilizante, devido a grande quantidade de nitrogênio, fósforo, cálcio e matéria orgânica em geral que entrega ao solo. Pode também ser utilizada na alimentação de gado bovino, previamente seca ao sol e na preparação de rações a partir dos resíduos da agroindústria da cana (AGUILERA & RUIZ, 1999).

2.2 Ceras: funções e aplicações

Define-se cera como uma mistura de compostos apolares de cadeia longa, encontrados na superfície de plantas e animais (O'KEEFE, 1998; LI & PARISH, 1998). Cera é quimicamente definida como um éster de um ácido graxo de cadeia longa com um álcool graxo de cadeia longa e que normalmente é chamada de “éster de cera” para se diferenciar de outros componentes. Além dos ésteres; hidrocarbonetos, ácidos e álcoois graxos de cadeia longa e outros componentes apolares constituem parte da cera que contribuem para o alto ponto de fusão e na impenetrabilidade à água (HWANG et al., 2002).

Ésteres de cera são ésteres de cadeia longa derivados de ácidos e álcoois com comprimento de cadeia superiores a 20 carbonos. Estes componentes possuem muitas aplicações devido ao seu comportamento umectante em superfícies e a sensação não gordurosa proporcionada quando aplicada na superfície da pele. Ésteres de cera são importantes ingredientes em formulações cosméticas (limpadores, condicionadores e umectantes), em produtos farmacêuticos (como agente anti-espumante na produção de penicilina), lubrificantes, plastificantes, polimento e aplicações na indústria química (GUNAWAN et al., 2005).

No setor alimentício, emulsões de ceras são utilizadas no recobrimento de frutas, de queijos e em gomas de mascar com função de proteção e brilho. As emulsões do tipo cera e água são mais estáveis do que óleo e água, devido ao alto ponto de fusão das ceras

(HERNANDEZ & BAKER, 1991).

Os ésteres de cera das plantas estão localizados na sua camada cuticular. Alguns insetos possuem uma glândula produtora de cera (cera de abelha, ghedda, shellac e ceras chinesas) e juntamente com ceras de plantas (bayberry, candelilla, carnaúba, café cereja, cork, algodão, esparto, Japan lemon, ouricuri, retamo, cera de cana-de-açúcar e de farelo de arroz e óleo de jojoba) se tornam importantes materiais industriais. Os ésteres de cadeia longa também são componentes de sebo de animais e/ou secreções de glândulas especiais. Todos os pássaros com algumas exceções, também produzem uma secreção, que consiste de ésteres (STRANSKY et al., 2006).

A cera presente na superfície de folhas, bainhas, troncos, córtex, flores, frutos e cascas confere um importante papel na preservação do balanço de água da planta através da redução da evaporação da água da superfície, funcionando como barreira à passagem de água para dentro e fora das células (HWANG et al., 2002).

Outra importante função da cera presente nas plantas é a minimização dos danos mecânicos às células, inibindo, portanto, o ataque de fungos e insetos (HWANG et al., 2002).

De acordo com Szafranek & Synak (2006) a composição química das ceras cuticulares das plantas pode afetar a resistência das plantas aos herbívoros, influenciando o comportamento destes.

2.2.1 Potencial de produção de cera de cana-de-açúcar

A Tabela 5 mostra a quantidade de cera de carnaúba e cera de abelha produzidas no Brasil. Em 2004 a produção de cera de carnaúba foi de 3.000 ton, enquanto que a cera de abelha foi produzida em quantidade inferior (1.650 ton). Cabe ressaltar que no ano de 2006 foram produzidas 455 milhões de toneladas de cana-de-açúcar (IBGE, 2007). Com esta quantidade de cana seria possível produzir **455.000 ton** de cera bruta de cana no ano de 2006, ou seja, um valor bastante superior à quantidade de cera de carnaúba e de abelha produzidas.

Desta forma, o Brasil pode ser considerado um país em grande potencial na produção de cera de cana-de-açúcar.

Tabela 5. Quantidade produzida de cera de carnaúba e cera de abelha no Brasil.

Cera (toneladas)		
Ano	Carnaúba*	Abelha**
1990	6.581	*
1991	6.883	*
1992	6.531	*
1993	5.188	*
1994	4.916	*
1995	5.228	*
1996	2.592	*
1997	2.203	*
1998	1.959	1.500
1999	2.264	1.600
2000	2.399	1.600
2001	2.883	1.550
2002	3.120	1.600
2003	3.418	1.650
2004	3.600	1.650
2005	*	1.650

*Fonte: SIDRA, 2007.

**Fonte: FAO, 2005.

2.2.2 Cera de cana-de-açúcar

A cera da cana-de-açúcar forma-se em depósitos, principalmente perto dos nós e das bainhas foliares da planta. A cera representa uma pequena proporção em peso na planta (cerca de 0,12%) (PATURAU, 1969). Larios, Perez, Marrero (1993) realizaram um estudo sobre a distribuição da cera na cana-de-açúcar utilizando 3 variedades de cana, e encontraram um teor de cera maior nas folhas (1,87%) da cana. No entanto, considerando a massa de folhas e colmo por cada 100 kg de cana, o teor de cera no colmo representa 70% de toda a cera contida na cana.

Segundo Spencer (1977) de 1 tonelada de cana podem ser recuperados 900g de cera presente na capa que recobre o talo, porém o balanço de matéria para a recuperação da cera

através da extração e refino da cera bruta contida na torta de filtro é 5 vezes inferior a este índice. A experiência industrial em Cuba dos últimos 10 anos indica que como valor médio se obtém 180g de cera refinada por tonelada de cana.

Vieira (2003) considerou a obtenção, em média, de 30kg de torta de filtro úmida por tonelada de cana-de-açúcar. Deste modo, a extração de cera das amostras analisadas renderia para cada tonelada de cana, entre 1,3 e 2,13Kg de cera bruta, já que os rendimentos da extração de tortas de filtro foi de 4,32 a 7,11 % em cera bruta.

De acordo com Barrera-Arellano (2007) para cada tonelada de cana-de-açúcar processada, obtém-se em média 13Kg de torta de filtro seca. Gandra (2006) obteve rendimentos de extração de 7% e 5,8% em cera bruta de cana orgânica e mista, respectivamente. Desta maneira, segundo o autor, a extração de cera das amostras estudadas proporcionaria rendimentos entre 0,8 e 1Kg de cera bruta para cada tonelada de cana processada.

2.2.3 Frações da cera de cana-de-açúcar

A cera purificada, o óleo e a resina (cera dura) compõem as três frações da cera bruta extraída da torta de filtro de cana-de-açúcar. Segundo Frutuoso (1989), a cera bruta de cana, tal como é extraída a partir da torta de filtro, é um sólido ceroso mole de cor escura e com um odor forte e característico. Contém cerca de 45% de cera, 35% de ácidos graxos ou óleos e 20% de resina. A cera purificada é o componente mais valioso e contém aproximadamente, 55% de ésteres, 8% de ácidos livres, 10% de álcoois livres, 25% de aldeídos e cetonas e 2% de hidrocarbonetos.

Comparando a composição da cera de cana com outros tipos de cera, percebe-se que os componentes majoritários são os ésteres graxos.

De acordo com Hamilton (1995), o maior componente da cera de carnaúba refinada são os ésteres, o qual contribuem com 84-85%. Os outros constituintes são ácidos graxos livres (3-3,5%), álcoois (2-3%), lactonas (2-3%), hidrocarbonetos (1,5-3%), resina (4-6%) e resíduos

inorgânicos e umidade (0,5-1%). A cera purificada extraída da cera bruta do óleo de girassol consistiu de 12,6% de álcoois graxos livres, 16,2% de ácidos graxos livres, 66% de ésteres, 6% de hidrocarbonetos e traços de triacilgliceróis (KANYA, RAO, SASTRY, 2007). A cera de sorgo tem como componentes majoritários os álcoois graxos (33,7%), seguido dos aldeídos (31,9%), ácidos graxos (24,4%), ésteres de cera (4%), hidrocarbonetos (1,3%) e 4,7% não identificados (HWANG et al., 2002).

Cera de mel de abelha (*Apis mellifera*) é uma mistura complexa de alcanos, alquenos, monoésteres, diésteres, hidroximonoésteres, ácidos graxos de cadeia longa e outros componentes minoritários. Análises de amostras de cera de abelha por cromatografia gasosa e espectrometria de massa indicam que 47% da cera é constituída de ésteres, e que estes contém álcoois de 24 a 34 carbonos combinados primariamente com os ácidos palmítico e oléico (JACKSON & ELLER, 2006).

Gandra (2006) obteve ceras brutas de torta de filtro provenientes de cana-de-açúcar orgânica e mista. A cera bruta de cana mista apresentou uma coloração verde escura, levemente amarelada e a cera bruta de cana orgânica, uma coloração verde muito intensa. Neste estudo, o autor utilizou dois métodos distintos de purificação da cera bruta. No Método denominado de “Álcool a Frio” foram obtidas três frações: cera purificada, cera dura e óleo, apresentando rendimentos de 63,8%, 10,4% e 25,2% (de cana mista), e 57,8%, 15,8% e 25,4% (de cana orgânica), respectivamente. Utilizando o Método de Álcool a Quente, duas frações foram obtidas: cera mole e cera dura. O rendimento do processo de purificação foi de 89,8% em cera mole e 9,2% em cera dura, frações provenientes da cera bruta de torta de filtro de cana mista. Para o processo de purificação de cera bruta orgânica, o rendimento foi de 88% em cera mole e 11,2% em cera dura.

De acordo com Minaz (1980) a cera bruta extraída da torta de filtro é composta de 40% de cera purificada, 40% de óleo e 20% de resina. Segundo García, Rodriguez, Tio (1999), o óleo constitui a fração solúvel em acetona a 25%. É um líquido de cor verde escura e de

composição similar à de outros óleos vegetais. A cera purificada é a fração solúvel em acetona a 100°C e em isopropanol a 80°C. A resina é um sólido frágil de cor negra brilhante e insolúvel em acetona e isopropanol, a temperaturas de 70 a 100°C. As características dos produtos obtidos por García, Rodriguez, Tio (1999) e por Gandra (2006) estão apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6. Características físico-químicas das frações obtidas a partir da cera de cana-de-açúcar.

Cera refinada	(a)	(b)**
Cor	Marrom	Verde
Ponto de fusão (°C)	77-78	78
Índice de acidez (mg KOH/g)	25-40	23
Índice de saponificação (mg KOH/g)	90-100	79
Índice de iodo (mgI ₂ /g)	20-30	22
Consistência ASTM (dmm)	2-4	2,3
Óleo		
Cor	Verde escuro	Verde escuro
Ácidos graxos totais (%)	80	-
Fitosteróis(%)	6-8	-
Outros (glicerina, água, terpenos)	12-14	-
Índice de acidez (mg KOH/g)	27	58,6
Índice de saponificação (mg KOH/g)	150	179
Resina		
Cor	Negro brilhante	Marrom claro
Ponto de fusão (°C)	80 min	80
Índice de acidez (mg KOH/g)	15 máx	15
Índice de saponificação (mg KOH/g)	50-90	88
Voláteis (%)	2 máx	-
Cinzas (%)	10 máx	-
Consistência ASTM (dmm)	2	1,5

Fonte: (a) García, Rodriguez, Tio (1999).

(b) Gandra (2006).

** Cera proveniente de cana orgânica.

A cera refinada é usada em graxas, polimento para pisos, cosméticos, tintas de impressão, tintas dispersantes, tintas para papel carbono, emulsões para preservação de frutas, vegetais e queijo, para dar brilho a comprimidos, medicamentos de ação prolongada, emulsões

para impermeabilização, tratamento de fibras têxteis, pegamentos de fusão quente, para dar formas aos plásticos, fundições de precisão e como plastificante em pneumáticos. Também pode ser usada como matéria-prima para obtenção de álcoois de cadeia longa (C22-C34) (GARCÍA, RODRIGUEZ, TIO, 1999).

O óleo pode ser usado em rações avícolas, para a obtenção de fitoesteróis, antiespumantes, na fabricação de pós-extintores de graxas anticorrosivas, como plastificantes em pneumáticos, etc. O uso da resina é mais restrito; é empregada como aditivo e plastificante em pneumáticos e em misturas com cera para a fabricação de tintas para papel carbonos e fitas de máquinas. A cera pode ser modificada quimicamente ou fracionada por destilação molecular. É possível obter ceras esterificadas, uretanadas e saponificadas, bem como ceras branqueadas com peróxidos, para usos específicos (GARCÍA, RODRIGUEZ, TIO, 1999).

2.2.4 Propriedades físico-químicas da cera

Em um estudo realizado por Garcia & Garcia (1996), a cera de cana-de-açúcar extraída a partir da torta de filtro com hexano apresentou índice de acidez de 32 mg KOH/g, índice de saponificação de 98 mgKOH/g e índice de iodo de 28. A cera refinada (cera bruta extraída em hexano e purificada com etanol) apresentou menores índices de acidez (27 mgKOH/g) e iodo (21), e maior índice de saponificação (106 mgKOH/g) comparada com a cera bruta.

Vieira (2003) analisou a composição da cera bruta de cana-de-açúcar após extração com solvente n-hexano. Ceras brutas de cana orgânica e queimada apresentaram índice de acidez de 52 e 44 mg KOH/g; índice de saponificação de 123 e 120 mg de KOH/g; índice de iodo de 23 e 21; teor de matéria insaponificável de 35 e 36%; respectivamente. Após o processo de purificação, a ceras de cana orgânica e queimada, apresentaram índice de acidez de 20 e 17 mgKOH/g; índice de saponificação de 78 e 76 mg de KOH/g; índice de iodo de 13 e 10; teor de matéria insaponificável de 56 e 57%; respectivamente.

Em estudos realizados por Gandra (2006), as ceras brutas de cana, apresentaram índice de acidez de 36 e 34 mg KOH/g; índice de saponificação de 116 e 117 mg de KOH/h e índice de iodo de 48 e 48,5 para cera bruta de cana orgânica e cana mista, respectivamente. Para as ceras purificadas com etanol, os valores encontrados foram: índice de acidez de 23 mg KOH/g; índice de saponificação de 79 e 78mg de KOH/h e índice de iodo de 22 e 21 para cera bruta de cana orgânica e cana mista, respectivamente.

Rozário (2006) obteve valores de índice de acidez de 27 e 39 mg de KOH/g; índice de saponificação de 105 e 118 mg de KOH/g; índice de iodo de 33 e 56 e teor de matéria insaponificável de 32 e 51%, para cera bruta e cera purificada com etanol, respectivamente.

Segundo Vieira (2003) as ceras brutas de cana de açúcar apresentaram um teor percentualmente mais baixo de matéria insaponificável que as ceras purificadas, devido à presença da fração triacilglicerólica na cera bruta. Este aumento do teor de insaponificáveis após a purificação depende da eficiência do processo utilizado para concentrar a fração de ésteres de cera das amostras.

García et al. (2003) obtiveram ponto de fusão de 80°C para cera de cana extraída com solvente tolueno e ponto de fusão de 74°C para as a mostras obtidas com tricloroetileno. Os valores reportados pela literatura para ponto de fusão da cera bruta de cana orgânica variaram entre 72 a 76°C, já para cera purificada de cana orgânica os valores encontrados foram entre 70 a 78°C (ROZÁRIO, 2006; GANDRA, 2006).

A Tabela 7 apresenta os valores reportados na literatura das propriedades físico-químicas da cera de cana-de-açúcar.

Tabela 7. Propriedades físico-químicas da cera de cana-de-açúcar.

Ceras	Fonte	IA	IS	II	PF	MI
Bruta de cana orgânica	Vieira (2003)	52	123	23	-	36
	Gandra (2006)	36	116	48	76	-
	Rozário (2006)	27	105	33	72	32
Purificada de cana orgânica	Vieira (2003)	20	78	13	-	56
	Gandra (2006)	23	79	22	78	-
	Rozário (2006)	40	118	56	70	51
Bruta de cana queimada	Vieira (2003)	44	120	21	-	36
Purificada de cana queimada	Vieira (2003)	17	76	10	-	57
Bruta de cana mista	Gandra (2006)	34	117	48	75	-
Purificada de cana mista	Gandra (2006)	23	78	21	78	-
Bruta	Garcia & Garcia (1996)	32	98	28	-	-
	Garcia et al. (2003)	-	-	-	74-79	-
Purificada	Garcia & Garcia (1996)	27	106	21	-	-

IA= Índice de acidez (mgKOH/g); IS= Índice de saponificação (mgKOH/g); II= Índice de iodo (%iodo absorvido); PF= Ponto de fusão (°C); MI =Teor de matéria insaponificável (%)

Os valores das propriedades físico-químicas das ceras brutas e purificadas encontrados na literatura não são constantes. Segundo Gandra (2006), esta variação está intimamente relacionada com as condições e tipos de solventes utilizados nas etapas de extração e purificação, processos de moagem e, especialmente, com a variedade da cana cultivada.

2.2.5 Extração

Vários métodos para a extração de ceras, através do uso de solventes não-polares, são descritos. Uma vez que as ceras estão ligadas às superfícies de forma hidrofóbica, estas devem ser extraídas com solventes como hexano, benzeno, clorofórmio, éter de petróleo ou acetona (HWANG et al., 2002).

Vieira (2003) avaliou a eficiência da extração de cera de tortas de filtro de cana orgânica e queimada, com solventes n-hexano, ciclohexano, isopropanol e etanol. Após a seleção do solvente (n-hexano), o autor realizou ensaios de extração para a otimização do processo em escala laboratorial. As faixas ótimas de trabalho (relação solvente:matéria-prima de 13:1 a 15:1,

tempo de 5 a 6 horas e tamanho máximo de partícula de 4,0mm) permitiram a obtenção de um rendimento relativo superior a 95%.

Gandra (2006) utilizou tortas de filtro de cana orgânica e de cana mista (cana orgânica e cana queimada), para a extração da cera bruta mediante a utilização de solvente hexano em extrator tipo Soxhlet Piloto. Neste estudo, parcelas de 500g de torta de filtro seca foram submetidas à extração por 8 horas em 8 ciclos de refluxo em solvente. Após a extração, a miscela foi concentrada a vácuo e o solvente foi recuperado. O rendimento de extração foi de 7% de cera bruta de cana orgânica e 5,8% de cera bruta de cana mista. Como a torta de filtro continha 7,4% (orgânica) e 6,2% (mista) de lipídios, a eficiência da extração (% de cera bruta extraída/%de lipídios na torta) foi considerada excelente, uma vez que se obtiveram valores de rendimento de 94,6% para a torta de filtro de cana orgânica e 93,5% para a torta de filtro de cana mista. O rendimento da extração é influenciado pela origem da torta de filtro de cana-de-açúcar, entretanto, a eficiência da extração não variou em função do tipo de torta (proveniente de cana orgânica ou mista).

Segundo Adamenas (1982), os melhores resultados de rendimento do processo de extração são obtidos com tortas de filtro com umidade residual de aproximadamente 2%, quando o solvente circula de forma melhor, agindo com maior rapidez e eficiência. O limite de tolerância de umidade é de 12%.

2.2.6 Purificação

Gandra (2006) utilizou dois métodos de purificação da cera bruta de cana-de-açúcar: Método de Álcool a Frio e Método de Álcool a Quente. No Método de Álcool a Frio, etanol anidro a 10°C foi adicionado à cera bruta, obedecendo à relação cera bruta:solvente 1:4 (p/v) e mantido sob agitação por 30 minutos. A mistura foi transferida à uma centrifuga para a separação do óleo e solvente. Ao precipitado, adicionou-se etanol anidro na mesma proporção (1:4) e aqueceu-se a mistura sob refluxo por 15 minutos. A fase superior (solvente + cera

purificada) é separada do precipitado (cera dura). Desta maneira, a partir deste método de purificação foi possível obter três frações denominadas: “óleo”, “cera purificada” e “cera dura” de cana-de-açúcar.

Já o Método de Álcool a Quente se difere do anterior, uma vez que envolve apenas uma etapa de purificação com etanol anidro, obedecendo à relação cera bruta:solvente 1:4 (p/v). O sistema cera bruta e etanol é mantido sob ebulição, refluxo e agitação por 15 minutos. A fase superior (solvente + cera) é separada do precipitado (cera dura). Neste processo, são obtidos dois produtos denominados de “cera mole” e “cera dura”.

Rozário (2006) também utilizou o Método de Álcool Quente, porém em escala piloto, para a obtenção da fração a qual denominou de “cera purificada de cana-de-açúcar”.

Para a purificação da cera bruta de cana-de-açúcar, Vieira (2003) utilizou o método de cristalização fracionada. Neste método, amostras de ceras brutas fundidas foram dissolvidas em hexano sob refluxo, de acordo com a relação cera:solvente de 1:20 (p/v). A solução foi resfriada à temperatura ambiente e posteriormente a 10°C por 1 hora. Após a centrifugação, o precipitado foi lavado com acetona (2:1v/p) a 10°C, filtrado e seco em estufa para a obtenção da “cera purificada de cana-de-açúcar”.

2.2.7 Clarificação

Devido à sua cor escura e odor forte faz-se necessário a clarificação da cera. Tratamentos com absorventes, como terras Fuller e carvão ativo, não apresentaram muito sucesso. Outros métodos químicos, utilizando cloreto de potássio, ácido sulfúrico e ar, apresentaram melhores resultados (PATURAU, 1969).

Azzam (1986) utilizou vários agentes clarificantes: ácido crômico, ácido nítrico, cloreto de sódio e clorato de potássio. A cera clarificada com ácido crômico apresenta características comparáveis em muitas propriedades químicas às ceras obtidas por outros métodos de refino, sendo, porém, superior na coloração.

Berthold (1993), citado por Krell (1996), descreve dois métodos químicos para a clarificação da cera de abelha. No primeiro método, o autor emprega ácido oxálico e, no segundo, peróxido de hidrogênio (30 a 50%), ambos dissolvidos em água. Após fusão da cera e adição de agente branqueador, a mistura é mantida aquecida e com agitação até que a clarificação desejada seja atingida. No final, a remoção do reagente deve ser feita com água.

A maioria das operações comerciais utiliza produtos químicos para a clarificação de ceras ou adsorventes de filtros especiais. Dentre estes produtos estão ácidos oxálico, peróxido de hidrogênio, ácido ortofosfórico, ácido cítrico, dicromato de sódio, permanganato de sódio, permanganato de potássio, persulfato de amônio, peróxido de benzoíla e outros. Na clarificação com adsorventes, a cera derretida é mantida sob agitação durante várias horas na presença de carvão ativo, terras Fuller ou diatomáceas e as impurezas adsorvidas são removidas com filtro prensa (KRELL, 1996).

Botega & Barrera-Arellano (2007) utilizaram peróxido de hidrogênio na clarificação da cera de cana-de-açúcar. Utilizando um planejamento experimental associado à análise de superfícies de resposta, determinaram as seguintes condições ótimas para o processo: temperatura 72,5°C, 10% de H₂O₂, adicionado em 4 porções, para a cera bruta e temperatura de 72,5°C, 9% de H₂O₂, adicionado em 3 porções, para a cera purificada com etanol a frio, sendo o tempo total do processo, para ambas matérias-primas, igual a 1 hora. As ceras clarificadas obtidas apresentaram cor Gardner de 2 unidades e teores zero de clorofila.

2.3 Álcoois Graxos

Álcoois graxos são álcoois alifáticos com mais de 6 carbonos em sua molécula e podem ser naturais, derivados de óleos, gorduras ou ceras; ou sintéticos, derivados do petróleo (LEHEN-FERRENBACH, 1996).

Os principais processos de obtenção dos álcoois graxos são: Hidrogenação catalítica de ésteres de ácido graxos; Processo Oxo; Processo Ziegler e o Processo desenvolvido por

Henkel (LE HEN-FERRENBACH, 1996).

Na hidrogenação catalítica, o ácido graxo reage com álcool para formar um éster, este é hidrogenado na presença de catalisador (cobre), resultando no álcool graxo. No Processo Oxo, descoberto em 1938 por Roelen, o monóxido de carbono e hidrogênio reagem com óleo, na presença de cobalto (catalisador), obtendo-se aldeídos. Estes aldeídos são hidrogenados para formar os álcoois graxos. Este processo forma produtos com alto grau de ramificação. No processo Ziegler, o etileno reage com trietilalumínio, produzindo alquil alumínio. Estes intermediários são oxidados a alquóxidos de alumínio, os quais são hidrolisados a álcoois primários. No processo desenvolvido por Henkel, os álcoois graxos são produzidos a partir de óleos e gorduras. Este processo se baseia na hidrogenação do metil éster, produzido por esterificação de ácidos graxos ou por transesterificação de triacilgliceróis (JOHNSON, 1988).

2.3.1 Aplicações dos álcoois graxos

Os álcoois graxos de cadeia carbônica menor (6-18 carbonos) são importantes em várias aplicações comerciais. Estes são usados, na maioria das vezes, na sua forma derivada, como ésteres de ácido adípico, fosfórico e sulfúrico; sendo que somente cerca de 5% dos álcoois graxos são usados diretamente nas aplicações comerciais. Na indústria de plásticos (compreendendo os álcoois graxos de cadeia C_6 a C_{10}) os derivados de álcoois graxos são usados como plastificantes, estabilizantes e retardadores de chama; nas indústrias petroquímica e siderúrgica como lubrificantes, aditivos de lubrificantes e como fluido hidráulico; e na indústria têxtil como surfactantes. Os derivados de álcoois graxos de cadeia C_{11} a C_{18} são utilizados como detergentes, amaciantes, desinfetantes, limpadores de metais, lubrificantes, no processamento de papel e tecido, entre outros. Já na área cosmética e farmacêutica o álcool graxo oleil ($C_{18}H_{36}O$) é amplamente utilizado como emoliente e estabilizante de emulsão, respectivamente (JOHNSON, 1988).

2.3.2 Álcoois graxos de cadeia longa

Os álcoois alifáticos ocorrem naturalmente na forma livre ou esterificada. Podem

apresentar cadeias de vários comprimentos, geralmente saturadas, com funções alcoólicas primárias, secundárias ou, mais raramente, terciárias. Os álcoois de cadeia longa, denominados álcoois graxos, são solúveis em solventes orgânicos de constante dielétrica de valor intermediário, como o éter etílico. As propriedades químicas dos álcoois graxos são as do grupo hidroxila, sendo que sua reatividade diminui com o aumento do comprimento da cadeia (SONNTAG, 1979).

Os álcoois graxos de cadeia longa estão presentes em diversas ceras como: abelha, carnaúba, farelo de arroz, farelo de milho e grão de sorgo (Tabela 8); e cera de cana-de-açúcar (Tabela 9).

Tabela 8. Álcoois graxos presentes em diferentes ceras naturais.

Ceras							
N° Carbonos	Grão de sorgo	Abelha	Abelha (própolis)	Abelha	Carnaúba	Farelo de arroz	Farelo de milho
	Hwang et al. (2002)	Vieira (2003)	Negri et al. (2000)	Jackson & Eller (2006)	Vieira (2003)	Vali et al. (2005)	Jackson & Eller (2006)
18	-	7,04	-	-	-	-	-
20	-	0,98	-	-	tr	-	-
21	18,3	-	-	-	-	-	-
22		-	-	-	3,52	-	-
23		-	-	-	-	-	-
24		16,19	6	9,1	12,53	4,81	1,7
25		-	-	-	-	0,42	-
26		12,7	12,16	6	14	tr	7,41
27	1,6	-	-	-	-	0,45	-
28	44,6	15,89	10	18,4	2,01	14,37	11,8
29	0,7					0,82	
30	22,1	27,55	73	37,2	10,32	23,20	41,1
31	-	-	-	-	-	0,70	-
32	-	13,55	5	21,1	58,37	18,38	37,7
33	-	-	-	-	-	0,65	-
34	-	0,99	-	0,3	12,95	12,44	2,9
34**	-	-	-	-	-	2,75	-
35	-	-	-	-	-	0,16	-
36	-	-	-	-	-	6,075	-
36**	-	-	-	-	-	4,008	-
37	-	-	-	-	-	0,26	-
38	-	-	-	-	-	0,11	-
38**	-	-	-	-	-	2,86	-
NI	-	4,64	-	-	-	-	-

**ramificado

A cera de carnaúba é composta em sua totalidade de álcoois graxos de cadeia longa de 24 a 32 carbonos, enquanto que o triacontanol (C₃₀) é o principal componente das ceras de abelha, de farelo de arroz e de farelo de milho. O álcool graxo predominante na cera de grão de sorgo é o octacosanol (C₂₈).

Nos dados apresentados na Tabela 9, Vieira (2003) e Rozário (2006) utilizaram o método proposto por Pina, Pioch, Graille (1987) para promover a hidrólise total dos ésteres de cera, permitindo assim a medida dos álcoois graxos de cadeia longa. Nesta metodologia, as amostras são derivatizadas na presença do reagente de Grignard, que reage com os grupamentos éster da cera, convertendo os ácidos graxos em álcoois terciários e os álcoois graxos permanecem como álcoois primários. Gandra (2006), para a análise dos álcoois graxos, utilizou metodologia proposta por Hartmann & Lago (1973), na qual as amostras são preparadas na forma de metil ésteres de ácidos graxos. De acordo com Gandra (2006), os álcoois graxos de cadeia longa ficam retidos na fase etérea juntamente com os metil ésteres de ácidos graxos, permitindo-se, portanto, as suas determinações simultâneas.

Tabela 9. Composição (%) em álcoois graxos de ceras de cana-de-açúcar bruta e purificada.

Cera	Cana-de-açúcar	Fonte	Álcool graxo								NI
			24	26	27	28	29	30	32	34	
Bruta	orgânica	Vieira (2003)	7,81	9,19	-	61,5	-	12,2	6,04	tr	2,15
		Gandra (2006)	3,3	15,9	6,3	57,5	4,1	9,4	3,6	-	-
		Rozário (2006)	2,6	18,8	3,7	57,3	7,4	6,6	3,8	-	-
	queimada	Vieira (2003)	9,42	10,1	-	63,8	-	8,67	4,58	tr	2,38
	mista	Gandra (2006)	3,1	14,2	6,2	58,9	3,9	9,9	3,9	-	-
Purificada	orgânica	Vieira (2003)	7,09	8,9	-	67,3	-	11,1	5,57	tr	-
		Gandra (2006)	2,7	11,8	3,8	62,8	5,5	9,9	3,6	-	-
		Rozário (2006)	1,8	15,3	3,1	59,3	9,7	8,2	2,6	-	-
	queimada	Vieira (2003)	8,04	10,5	-	67,7	-	7,6	3,44	tr	1,64
	mista	Gandra (2006)	2,7	11,8	4,3	63,4	3,8	10,5	3,5	-	-

Vieira (2003) analisando amostras de cera de cana-de-açúcar bruta e purificada constatou a presença de álcoois graxos saturados de 24 a 34 carbonos, sendo que o principal componente foi o octacosanol ($C_{28}H_{57}OH$), contribuindo com mais de 60% do total de álcoois graxos e cujos teores variaram de 11,85 a 22,48% nas ceras purificadas com acetona. Amostras de cera comercial de carnaúba, analisadas neste mesmo estudo, apresentaram álcoois graxos de cadeia mais longa (triacontanol, dotriacontanol e tetratriacontanol) em maiores proporções que nas amostras de ceras de cana.

Os resultados apresentados pelas ceras brutas de cana-de-açúcar orgânica e mista obtidos por Gandra (2006) foram similares aos obtidos por Rozário (2006), onde a proporção relativa de octacosanol foi de 57,3%.

Gandra (2006) encontrou teores de 22,9% de álcoois graxos na cera bruta de cana orgânica e 23,4% em cera bruta de cana mista. As amostras de ceras purificadas apresentaram uma maior concentração dos álcoois graxos totais, elevando o teor para 39,13% (cera purificada de cana orgânica) e 39,87% (para cera purificada de cana mista).

Garcia & Garcia (1996) relataram teores de 16,4% de álcoois graxos na cera bruta (extraída de torta de filtro de cana com hexano) e 42% em cera purificada (com etanol). Os álcoois graxos encontrados foram: docosanol ($C_{22:0}$), tetracosanol ($C_{24:0}$), hexacosanol ($C_{26:0}$), octacosanol ($C_{28:0}$), triacontanol ($C_{30:0}$) e dotriacontanol ($C_{32:0}$).

Segundo Vieira (2003), o processo de purificação promoveu um pequeno aumento na proporção relativa do octacosanol, verificado tanto na amostra de cera de cana orgânica quanto na amostra de cera de cana queimada. A proporção relativa deste álcool graxo aumentou em média 7,7% com o processo de purificação.

2.3.2.1 Policosanol

Segundo Pepping (2003), o policosanol é uma mistura de álcoois alifáticos primários de cadeia com 24 a 34 carbonos, extraído da cana de açúcar, sendo o octacosanol o álcool graxo

predominante, correspondendo a 63% da mistura. Outros compostos importantes que constituem a mistura são triacontanol (13%) e hexacosanol (6%); além de componentes minoritários como tetracosanol, heptacosanol, nonacosanol, dotriacontanol, e tetra-triacontanol.

Segundo Taylor, Rapport, Lockwood (2003), nos últimos 10 anos, suplementos nutricionais ou nutracêuticos, se tornaram populares entre o público em geral. Em especial, o octacosanol, se tornou objeto de estudo em diversos trabalhos científicos, por apresentar numerosas funções fisiológicas: redutor de colesterol, propriedades anti-agregatórias, uso citoprotetor e propriedades ergogênicas.

A Tabela 10 apresenta o teor de álcoois graxos presentes em diferentes amostras de ceras. Gandra (2006) e Rozário (2006) obtiveram o teor de álcoois graxos totais, já Vieira (2003) obteve o teor de octacosanol nas amostras estudadas.

Tabela 10. Teor de álcoois graxos de ceras de cana-de-açúcar.

Cera	Cana-de-açúcar	Concentração (%)	Fonte
Bruta	orgânica	11,85	Vieira (2003)*
		22,9	Gandra (2006)*
	queimada	12,85	Vieira (2003)*
	mista	23,4	Gandra (2006)*
	-	21,7	Rozário (2006)*
Purificada	orgânica	19,08	Vieira (2003)*
		39,13	Gandra (2006)*
	queimada	22,49	Vieira (2003)*
	mista	39,87	Gandra (2006)*
	-	29,9	Rozário (2006)*
Dura	orgânica	19,01	Gandra (2006)*
	mista	19,35	Gandra (2006)*

* Obtido pelo Método Álcool Frio; expresso em teor de álcoois graxos.

2.3.2.1.1 Policosanol e o efeito redutor de colesterol

Diversos estudos científicos apresentam o policosanol como redutor de colesterol, utilizando para comprovação do potencial redutor, experimentos com animais, voluntários saudáveis e pacientes idosos com hipercolesterolemia (TAYLOR, RAPPORT, LOCKWOOD,

2003).

O colesterol é um importante componente do organismo, já que é parte majoritária das membranas celulares, porém, altos níveis podem causar hipercolesterolemia e aterosclerose, contribuindo para uma elevação no risco de doenças coronarianas. O colesterol é transportado pelo organismo e removido da corrente sanguínea por seis lipoproteínas principais: lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de densidade intermediária, lipoproteína de densidade muito baixa, quilomicrons residuais e quilomicrons (TAYLOR, RAPPORT, LOCKWOOD, 2003).

O HDL transporta colesterol dos tecidos periféricos para o fígado e é o principal responsável pela manutenção dos níveis de colesterol do corpo, conseqüentemente, altos níveis de HDL são desejáveis (RANG, DALE, RITTER, 1999).

O LDL é a principal lipoproteína que transporta o colesterol no plasma sanguíneo e ajuda a incorporar colesterol nas membranas celulares. Os receptores de LDL das células capturam LDL por um mecanismo conhecido por endocitose. No entanto, há células nos hepatócitos que se ligam ao LDL e removem LDL do sangue. Quanto maior a quantidade de receptores de LDL, maior é a quantidade de LDL removida, o que é desejável. O aumento de LDL pode causar uma deficiência neste mecanismo de ligação, conhecido como hipercolesterolemia tipo II, e pode ser devido a um fator genético ou pela combinação de fator genético, dieta e estilo de vida. Os tratamentos visam o aumento do HDL e diminuição do colesterol total e LDL (CASTANO et al., 2000).

A aterosclerose é a causa principal de mortes e desabilitação no mundo ocidental porque predispõe ao infarto no miocárdio, acidentes vasculares cerebrais, doenças vasculares periféricas, que juntas são responsáveis por metade das mortes nos Estados Unidos. Trata-se de uma condição caracterizada por um desbalanço lipídico vascular (no plasma, nas células do sangue e na parede vascular). Várias condições, como hipertensão arterial sistêmica, fluxo turbulento, hipoxia, diabetes *mellitus*, ativação imunológica sistêmica e hiperlipidemias, induzem

injúria ao endotélio vascular desencadeando a aterogênese. Dentre esses fatores, a hipercolesterolemia é o distúrbio mais fortemente associado ao desenvolvimento da aterosclerose. A hipercolesterolemia é definida como quantidades de colesterol plasmático acima ou iguais a 240 mg/dL, porém 200 a 239 mg/dL já indicam a necessidade de intervenção médica (JUNIOR & SENNA, 2002).

Para o tratamento da hipercolesterolemia, a dieta com baixo teor de lipídios não é suficiente, sendo necessária uma intervenção farmacológica. Vários estudos clínicos provam que a redução do nível de LDL colesterol diminui a incidência de doenças cardiovasculares e de mortalidade (BENÍTEZ et al., 1997). Estudos clínicos e com animais mostraram que o policosanol reduz os níveis de LDL colesterol e o colesterol total e aumenta os níveis de HDL colesterol (PEPPING, 2003). O policosanol age impedindo a biossíntese de colesterol, através da inibição da enzima HMG-CoA (3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A) reductase (BENÍTEZ et al., 1997).

Kato et al. (1995) estudaram o efeito do octacosanol no metabolismo de lipídios, administrando à ratos, dieta rica em lipídios e suplementos de octacosanol. A adição de octacosanol (10g/kg da dieta rica em lipídios) reduziu significativamente o peso do tecido adiposo perirenal, sem diminuir o número de células, sugerindo que o octacosanol tenha eliminado o acúmulo de lipídios nos tecidos. Neste mesmo estudo, os autores concluíram que, apesar do octacosanol afetar o metabolismo de lipídios de ratos em dietas ricas em gorduras, nenhum efeito foi observado com animais em dietas normais. Portanto a ação do policosanol depende do conteúdo de gordura da dieta.

Arruzazabala et al. (2000) estudaram o efeito de doses (25 e 200 mg/Kg) de policosanol em coelhos alimentados com uma dieta rica em colesterol e concluíram que foi efetivo na prevenção do desenvolvimento de lesões na aorta. Observaram também que houve redução dos níveis de colesterol em coelhos saudáveis.

Foram administradas 10 a 20 mg de policosanol ou placebo em voluntários saudáveis

(com níveis de colesterol normal) por 4 semanas. Após este período, as pessoas que utilizaram o suplemento de policosanol apresentaram redução do nível de colesterol. Os pacientes que utilizaram altas doses de policosanol (20mg) também apresentaram redução do LDL e aumento do HDL. As pacientes que utilizaram placebo tiveram aumento do colesterol total e LDL (HERNANDEZ et al., 1992).

Em estudos realizados por Canetti et al. (1997), a administração de 10 mg/dia de policosanol por um período de 3 anos diminuiu os níveis de colesterol. Benítez et al (1997), administrando a mesma dose (10 mg/dia) em seis semanas, obtiveram reduções de 24,2% (LDL colesterol) e de 15,7% (colesterol total). Em pacientes com hipercolesterolemia, o nível de LDL colesterol reduziu de 17,7% em pacientes que utilizaram doses de 5 mg/dia de policosanol, por um período de 6 a 8 semanas; e de 21,5% com doses de 5 mg duas vezes ao dia pelo mesmo período. O colesterol total foi reduzido em 13,1% (doses de 5 mg/dia de policosanol) e em 16,2% (5 mg duas vezes ao dia). Estudos realizados em pacientes com hipercolesterolemia por longos períodos (52 a 104 semanas), mostraram que 5 mg de policosanol duas vezes ao dia reduziram o nível de LDL colesterol em 27,5% e 24,8%; o colesterol total, em 16,3% e 18,3%; e o HDL colesterol foi aumentado em 25,9% e 11,2%, respectivamente (PEPPING, 2003).

Em diversos estudos, pesquisadores têm tentado determinar como o policosanol modifica os lipídios do sangue e o metabolismo das lipoproteínas. Alguns comparam o policosanol às drogas estatinas, cujo mecanismo de ação é a inibição da HMG-CoA redutase, responsável pela conversão do HMG-CoA em mevalonato, um passo limitante na biossíntese do colesterol. O policosanol altera a atividade desta enzima, por mecanismos que operam independentemente da inibição direta da mesma. Isto poderia incluir uma alteração na expressão do gene, alterações na própria síntese da proteína ou mesmo a quebra da enzima, ou uma combinação de todos estes efeitos. Porém, nenhum estudo realizado tem medido diretamente qualquer um destes parâmetros e, supõe-se, pelo menos como descrito nos

estudos “in vitro”, que o policosanol possui os mesmos efeitos que as drogas “statin”, agindo, no entanto, por um mecanismo ligeiramente diferente (MENENDEZ, 2001).

O policosanol pode ser uma alternativa para a substituição das estatinas que são drogas normalmente utilizadas para o controle do nível de colesterol, que possuem muitos efeitos colaterais como dor de cabeça, complicações gastrointestinais, hepatite, alteração na função do fígado e erupções na pele (TAYLOR, RAPPORT, LOCKWOOD, 2003).

O efeito do policosanol e de pravastatina sobre o perfil lipídico de pacientes idosos hipercolesterolêmicos foi estudado por Castano et al. (1999). O estudo envolveu pacientes com 60 a 80 anos de ambos os sexos, em que 10mg de policosanol e pravastatina foram administradas por 8 semanas. O estudo mostrou que o policosanol foi mais efetivo que a pravastatina na redução dos níveis de LDL e no aumento do HDL. As duas drogas foram consideradas seguras e toleráveis, porém a pravastatina apresentou um possível risco de hepatotoxicidade.

Um outro estudo comparou o efeito do policosanol (10mg/dia) com o da fluvastatina (20 mg/dia). Algumas pacientes que utilizaram somente fluvastatina tiveram que interromper o estudo em virtude dos efeitos colaterais causada pela droga: dores gástricas, embaçamento da visão, náusea e erupção da pele, além de problemas com deterioração muscular (FERNANDEZ et al., 2001).

Muitos outros estudos (PONS et al., 1994; ANEIROS et al., 1995; CASTANO et al., 1995a; CASTANO et al., 1995b; CASTANO et al., 1996; MAS et al., 1999) avaliaram o efeito do policosanol comparado com um placebo e em todos os casos os efeitos do policosanol foram similares: redução do LDL colesterol e aumento do HDL colesterol.

O policosanol além de diminuir os níveis de LDL colesterol e colesterol total em pacientes portadores de hipercolesterolemia e em voluntários saudáveis (HERNÁNDEZ et al., 1992); diminuiu também em pacientes com diabetes *mellitus* tipo 2 e em mulheres na menopausa (PEPPING, 2003).

Segundo Taylor, Rapport, Lockwood (2003), as vantagens atribuídas ao uso de policosanol são: menores efeitos colaterais comparado às estatinas, aumento dos níveis de HDL colesterol e deve ser menos oneroso no tratamento de pacientes já que é um produto “natural” altamente viável.

2.3.2.1.2 Policosanol e propriedades anti-agregatórias

Outra evidência do efeito positivo do policosanol é a inibição da agregação das plaquetas. A consistência do sangue deve ser fluida o suficiente para evitar o dano nas veias e formação de coágulo. Quando as plaquetas do sangue se agregam, a fina consistência do sangue é convertida em um fluido mais grosso ou até mesmo em coágulos, causando trombose ou isquemia cerebral (TAYLOR, RAPPORT, LOCKWOOD, 2003).

A agregação pode ocorrer devido a agentes exógenos como ácido araquidônico, colágeno e adenosina difosfato. A agregação das plaquetas libera a enzima pró-agregatória Tromboxano A_2 (TxA_2), derivada da prostaglandina H_2 , o que contribui ainda mais para a agregação plaquetária (ARRUZAZABALA et al., 1993a).

Em estudo com ratos, em que se utilizaram placebo e policosanol, concluiu-se que 5 a 20 mg/kg de policosanol causam efeito anti-agregatório nestes animais. O mecanismo de ação é explicado através da inibição do metabolismo do ácido araquidônico, no estágio em que a enzima pro-agregatória TxA_2 é formada (ARRUZAZABALA et al., 1993b). Em outro estudo, também com ratos, os autores concluíram que em doses elevadas (50 a 200 mg/kg de policosanol), há um aumento significativo na inibição da agregação plaquetária (ARRUZAZABALA et al., 1993a).

O efeito de doses crescentes sucessivas de policosanol (10, 20 e 40 mg/dia) sobre a agregação de plaquetas foi investigado em estudo com 36 voluntários saudáveis. Os resultados mostraram que o efeito do policosanol foi acentuado, com o aumento da dose. Na fase final do estudo, com dose de 40 mg/kg de policosanol por dia, uma redução significativa da agregação

de plaquetas induzidas pelos agentes pró-agregatórios foi observada: 32,6; 34,6; 13,6% de redução da agregação de plaquetas induzidas por adenosina difosfato; epinefrina e colágeno; respectivamente (ARRUZAZABALA et al., 1996).

Arruzazabala et al., (1997) estudaram o efeito do policosanol e da aspirina sobre a agregação plaquetária em voluntários saudáveis. A administração diária de 20mg de policosanol mostrou uma redução significativa na agregação plaquetária induzida por adenosina difosfato, epinefrina e colágeno. A aspirina (100 mg/dia) também apresentou uma significativa redução na agregação de plaquetas induzida por colágeno e epinefrina. Porém, apesar de ela ser amplamente utilizada na prevenção de trombozes e isquemia cerebral, pode causar efeitos colaterais como irritação gástrica, dor de cabeça, sangramento no nariz. Uma vez que o policosanol inibe diretamente a síntese de TxA_2 (enzima pró-agregatória), a síntese de prostaglandina não é afetada, levando a efeitos colaterais menores, comparados com o uso das aspirinas.

Segundo Taylor, Rapport, Lockwood (2003), o policosanol é um eficiente inibidor da agregação plaquetária, porém a sua overdose pode causar problemas associados à hemorragias: o sangue pode se tornar fluido demais e levar os pacientes à ulcerações gástricas e sangramentos no cérebro. Desta maneira, policosanol não deve ser administrado com outro anticoagulante, como warfarina.

2.3.2.1.3 Policosanol e performance atlética

Muitos suplementos são usados como “auxiliares ergogênicos”, um termo utilizado para substâncias que melhoram a performance atlética e a capacidade de se exercitar. Atletas utilizam suplementos nutricionais como uma alternativa aos anabolizantes, os quais podem causar diversas complicações para o corpo, além de serem drogas ilícitas (DURDEN & DOERING, 1993).

Suplementos alimentares como carnitina, ginseng e octacosanol apresentam como uma

de suas funções, a propriedade ergogênica. Contudo não há regulamentação para produção, qualidade e uso destes produtos; levando-os ao uso descontrolado (DURDEN & DOERING, 1993).

Saint-John & MacNaughton (1986) estudaram o efeito da ingestão de octacosanol às respostas metabólicas. O estudo mostrou que 1000µg de octacosanol melhoram significativamente a força de ação e o tempo de reação sobre a resposta a um estímulo visual.

Outro estudo, envolvendo 45 pacientes com doença coronariana e isquemia miocárdial, monitorou a tolerância à atividade física durante exercício de corrida em esteira com eletrocardiografia. 15 pacientes utilizaram 5 mg de policosanol 2 vezes por dia, 15 utilizaram 5 mg de policosanol e 125 mg de aspirina e o restante dos pacientes usou placebo e 125 mg de aspirina. Os resultados mostraram que os grupos que ingeriram policosanol tiveram uma redução considerável de problemas cardíacos. Estes efeitos estão relacionados à diminuição do colesterol e ao efeito anti-agregatório provocado pela ingestão de policosanol (TAYLOR, RAPPORT, LOCKWOOD, 2003).

Muitos estudos avaliam o uso de octacosanol em atletas, porém de forma pouco específica. Desta maneira, tornam-se necessários mais estudos com voluntários que estejam praticando esportes similares e apresentem a mesma dieta alimentar (TAYLOR, RAPPORT, LOCKWOOD, 2003).

2.3.2.1.4 Policosanol e mecanismo citoprotetor

Apesar dos pacientes se beneficiarem do efeito antiagregatório e das vantagens cardíacas do uso diário da aspirina, os efeitos colaterais gástricos provenientes do seu uso são um problema para indivíduos com irritações gástricas ou úlceras. Estes problemas gástricos causados pela aspirina ocorrem através da inibição do efeito protetor das prostaglandinas, as quais agem no estômago protegendo a mucosa gástrica. O policosanol seria uma alternativa favorável para a substituição da aspirina, uma vez que além de proteger contra os efeitos

isquêmicos e trombóticos, age de forma a não interferir na produção de prostaglandina (TAYLOR, RAPPORT, LOCKWOOD, 2003).

Molina et al. (2005) descreveram o efeito terapêutico de álcoois alifáticos primários isolados de cera de abelha (denominado de fração D-002) sobre as úlceras gástricas agudas e crônicas induzidas por indometacina e ácido acético, respectivamente, em ratos. A úlcera gástrica aguda foi induzida com doses orais únicas de 20 mg/kg de indometacina. Neste estudo, tratamentos com 50, 100 e 200 mg/kg de D-002 e placebo foram administradas 3 horas após a indução da úlcera gástrica aguda. As úlceras gástricas crônicas foram induzidas com 50µL de ácido acético 80% aplicados na superfície da glândula do estômago do animal por 20 segundos. Vinte horas depois, doses de 50, 100 e 200 mg/kg de D-002 e placebo foram administradas por 5 dias. Foi observado que 200 mg/kg de D-002 administrados aos ratos com lesões gástricas causadas por indometacina, inibiu 56% das úlceras agudas comparadas com um controle. A mesma dose (200 mg/kg) também inibiu em 65,8% das úlceras gástricas crônicas induzidas com ácido acético.

Carbajal et al. (1996) estudaram a atividade antiúlcera de álcoois graxos primários de cera de abelha. O estudo visou determinar se o policosanol apresentava propriedades citoprotetoras sobre a mucosa gástrica em úlceras induzidas por etanol. Doses de 5 e 25 mg/kg de policosanol administrados em ratos normais aumentaram significativamente o conteúdo de mucosa solúvel; preveniu em 60% a permeabilidade vascular induzida por etanol e reduziu a concentração de tromboxane B2 (enzima pro-agregatória) na mucosa gástrica em ratos com úlceras induzidas por etanol.

Em outro estudo, doses de 25 e 50 mg/kg de álcoois primários isolados de cera de abelha foram efetivas na inibição de 50% de úlceras induzidas por indometacina em ratos. Em úlceras induzidas por etanol, a máxima inibição (66,9%) ocorreu com dose de 50 mg/kg de policosanol (CARBAJAL et al., 1995).

Portanto, ao contrário da aspirina, que causa irritação gástrica, o policosanol oferece

efeito citoprotetor, tornando-o como uma opção favorável para pacientes que tenham como contra-indicação a aspirina.

Segundo Taylor, Rapport, Lockwood (2003), o octacosanol, além de auxiliar no tratamento na hipertensão e alto colesterol, possui um grande diferencial de não provocar efeitos colaterais como irritação gástrica ou problemas musculares. Diante do aumento dos problemas de obesidade, do risco de aterosclerose e doenças cardíacas por todo o mundo, o policosanol poderá tornar-se uma droga do futuro, pois contribui no tratamento destas doenças.

2.3.2.1.5 Policosanol e toxicidade

A toxicidade oral do policosanol foi avaliada em estudos por 12 e 24 meses, onde doses de 0,5 a 500 mg/kg/dia foram administradas em ratos. Os grupos em tratamento e o controle foram comparados em relação: ao ganho de peso corpóreo, ao consumo alimentar, às observações clínicas e histopatológicas, à bioquímica do sangue e à hematologia. Os resultados foram similares, demonstrando que doses de até 500 mg/kg/dia de policosanol não exibem sinais de toxicidade e carcinogênese nestes animais (ALEMÁN et al., 1994a; ALEMÁN et al., 1994b). O efeito de doses de 50-500 mg/kg/dia de policosanol também foi avaliado em ratos machos e fêmeas por um período de 18 meses, reportando nenhum efeito tóxico ou carcinogênico (ALEMÁN et al., 1995).

Mesa et al. (1994) estudaram a toxicidade oral do policosanol administrado por 52 semanas em cães. Os animais tratados com doses de 30 a 180 mg/kg/dia foram comparados com o grupo controle, o qual manteve dieta sem a inclusão de policosanol. Em geral, o policosanol foi bastante tolerado e nenhum sintoma de toxicidade foi observado. Os autores concluíram que o policosanol se mostrou bastante seguro em uma dosagem de até 180 mg/kg/dia, a qual é 620 vezes maior que a dose máxima terapêutica recomendada para humanos (20mg/dia).

Em estudo com humanos, doses de 5 mg de policosanol 2 vezes ao dia foram administradas em pacientes com hiperlipoproteínaemia tipo II (teor de colesterol total e LDL não controlados pela dieta). Os resultados indicaram que o uso de policosanol por um período de 2 anos demonstraram segurança, tolerabilidade e eficácia desta droga (CANETTI et al., 1995).

Crespo et al. (1999) concluíram que 10 mg/dia de policosanol, além de aumentar em 7,5% o teor de HDL, trouxeram melhor segurança e tolerabilidade que doses de 20 mg/dia de lovastatina em pacientes com hipercolesterolemia e diabetes *mellitus* não dependentes de insulina.

De acordo com Pepping (2003) e Hargrove, Greenspan, Hartle (2004), nenhuma toxicidade foi observada pela administração com policosanol.

O policosanol é rapidamente absorvido, baseado em estudos de absorção radioativa em animais experimentais (ratos, coelhos e macacos) e em humanos. Esta radioatividade é principalmente distribuída no fígado, enquanto os níveis radioativos são baixos no sistema circulatório. Este efeito é uma vantagem para um agente redutor de colesterol, uma vez que o fígado é o principal órgão de síntese e regulação do metabolismo do colesterol. Estudos sobre a excreção do policosanol em animais e em humanos sadios têm demonstrado que as fezes são a principal rota de excreção após a administração oral, enquanto que a excreção via urinária não é relevante (MENENDEZ et al., 1996).

2.3.2.2 Obtenção de policosanol de cera de cana-de-açúcar

Os álcoois presentes nas ceras, na forma livre ou esterificada, constituem a maior parte da fração insaponificável, juntamente com os esteróis e hidrocarbonetos. Assim, para a separação e a obtenção da mistura de álcoois, a cera deve ser exaustivamente saponificada por adequado tratamento com álcali, na presença de um solvente adequado (WARTH, 1947).

Laguna Granja et al. (1997, 1999) patentearam um processo para a obtenção do policosanol, baseado em uma saponificação homogênea da cera de cana-de-açúcar, com

solução concentrada de hidróxido de sódio, potássio ou cálcio. A concentração de hidróxido variou de 5 a 30% e o tempo, de 3 a 10 horas. No sólido obtido, foi realizada uma extração sólido-líquido, onde a mistura de álcoois foi extraída de forma seletiva, empregando-se um solvente orgânico adequado, escolhido entre álcoois de 1 a 6 átomos de carbono, hidrocarbonetos de 6 a 9 átomos de carbono, cetonas de 3 a 8 átomos de carbono e compostos aromáticos, como benzeno e seus derivados, ou misturas destes. O período de extração variou de 5 a 20 horas. Posteriormente, o produto foi sucessivamente cristalizado, utilizando um dos solventes acima mencionados ou suas misturas. O rendimento obtido foi 13 a 27,4% e, a pureza, de 92,72 a 94,34%. O perfil do material obtido inclui o octacosanol como o maior componente (60-70%), seguido pelo triacontanol (10-15%), hexacosanol (5,5-8,5%), dotriacontanol (4-6%), heptacosanol (2-3,5%), tetratriacontanol (0,4-2%), nonacontanol (0,4-1,5%) e tetracosanol (0,5-1%).

Rozário (2006) obteve uma mistura de álcoois a partir de cera-de-açúcar através do estudo das seguintes etapas: purificação da cera bruta de cana pelo método álcool a quente; saponificação da cera purificada com NaOH, na presença de etanol como solvente; separação da mistura de álcoois da cera saponificada, utilizando solução salina e etanol, para obtenção do produto denominado “policosanol 50” e purificação com acetona do “policosanol 50” para obtenção do produto denominado de “policosanol 90”. As condições definidas para a reação de saponificação da cera purificada de cana-de-açúcar foram: relação cera:solução alcoólica de NaOH 2M em 1:1 (p/v), temperatura de 80°C e tempo reação de 15 minutos.

A Figura 1 apresenta o fluxograma do processo de obtenção do “policosanol 50” utilizado por Rozário (2006): 20 g de cera saponificada foi adicionada de 150 mL de solução salina 10% e a mistura foi aquecida em chapa com agitação magnética, até temperatura de ebulição. Após 5 minutos, a solução foi resfriada à temperatura ambiente e posteriormente a 10°C. O sobrenadante formado foi filtrado a vácuo e o material retido no filtro foi seco. Após a adição do solvente (relação cera saponificada:etanol de 1:10 (p/v)), a mistura foi aquecida sob

agitação constante até ebulição (78 - 79°C). Em seguida, interrompeu-se o aquecimento e a agitação, e a solução foi mantida em repouso por 1 minuto, tempo suficiente para que houvesse decantação de traços de resina, remanescente do processo de purificação, e outras impurezas. Após o tempo determinado, o material decantado foi separado e a solução resultante resfriada à temperatura ambiente e posteriormente a 10 °C, ficando nesta temperatura por mais 1 hora. O material precipitado, denominado de “policosanol 50” foi separado por filtração e seco em estufa, apresentando rendimento de 55-60% e teor de álcoois de 45-50%.

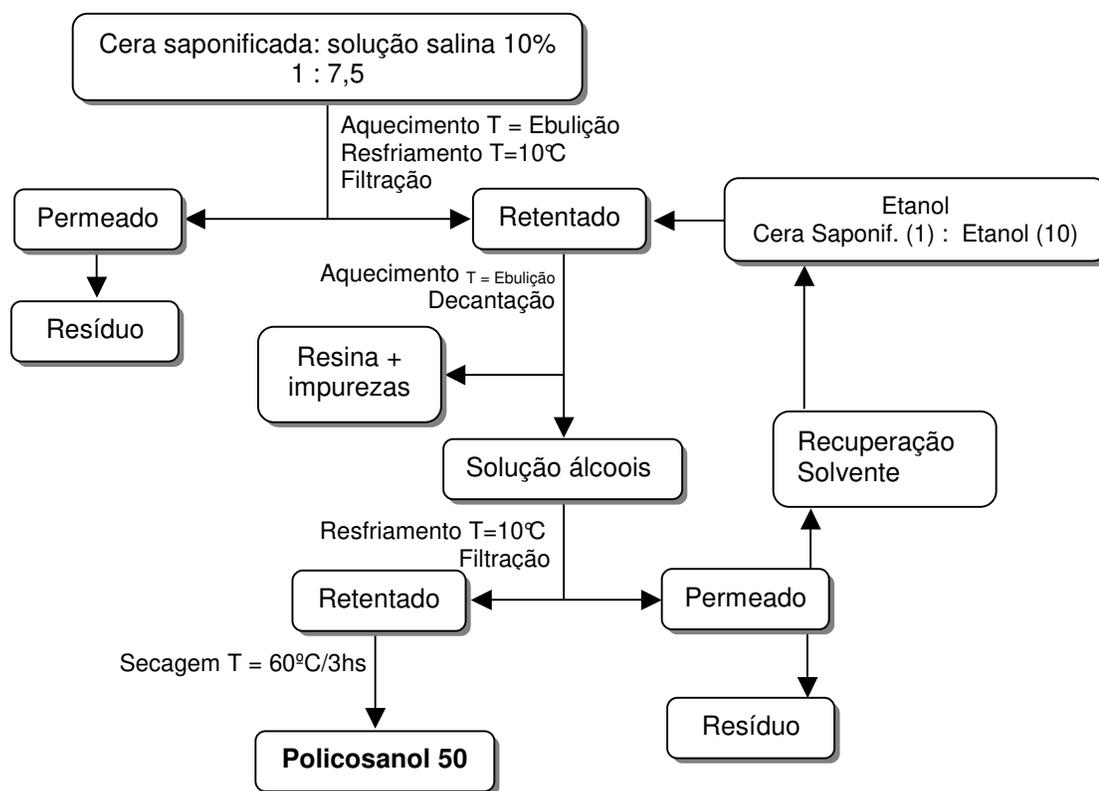


Figura 1. Fluxograma do processo de separação dos álcoois graxos de cera purificada saponificada, para a obtenção do “policosanol 50”, conforme metodologia proposta por Rozário (2006).

Objetivando obter um produto com alto teor em álcoois, Rozário (2006), purificou o “policosanol 50” através da adição de acetona, em uma relação de 1:30 (p/v). A mistura foi aquecida com agitação constante e mantida em refluxo por 30 minutos. Posteriormente, o conteúdo foi filtrado à quente e a solução obtida foi resfriada. O material precipitado filtrado e

seco, denominado de “policosanol 90” apresentou rendimento de 25,7% e teor de álcoois de 92,3%.

3. MATERIAL, MÉTODOS E PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 Material

3.1.1 Matéria-prima

Cera de cana-de-açúcar obtida por extração com hexana a partir de torta de filtro orgânica (cana cultivada em sistema orgânico por coleta mecânica sem queima), clarificada com peróxido de hidrogênio e purificada por extração com etanol, fornecida pela Usina São Francisco (UFRA), Sertãozinho, SP.

3.1.2 Reagentes, solventes e padrões

Foi utilizada vidraria de uso rotineiro em laboratórios de pesquisa, sendo que os reagentes utilizados nas análises químicas apresentaram especificações requeridas pela metodologia empregada. Os reagentes e insumos utilizados foram:

- Hidróxido de sódio (NaOH)- p.a.
- Álcool etílico anidro – Usina São Francisco (Sertãozinho, SP).
- Padrão Policossanol Lestanol (99,5%), cedido por Garuda International Inc., Lemon Cove, USA.
- Álcool cetosteárilico comercial (C16:0 – OH + C 18:0 – OH) 94%.
- Octacosanol Sigma (C28:0-OH)– grau de pureza 99%.

3.1.3 Equipamentos

Foram utilizados os seguintes equipamentos:

- Agitador de tubos Phoenix, modelo AT-56;
- Balança analítica Adventure OHAUS AR 2140;
- Balança semi-analítica Libror EB-3200D;
- Banho Termostatizado com agitação Lauda, modelo RC 20;
- Centrífuga MTD III PLUS, modelo 3PL;
- Chapa de aquecimento com agitação magnética IKA Werke, modelo RCT basic;
- Chapa de aquecimento com agitação magnética Fisatom, modelo 752A;

- Cromatógrafo gasoso CGC Agilent 6850 Series GC-System;
- Estufa Heraus, VT5042 EK;
- Estufa Quimis;
- Evaporador rotativo Fisatom, modelo 802A;
- Extrator modelo Sebelim TE-188 Tecnal;
- Penetrômetro marca Petrodidática, modelo Universal.

3.2 Métodos

3.2.1 Caracterização físico-química da cera clarificada e purificada

3.2.1.1 Índice de acidez

O índice de acidez foi determinado de acordo com o método oficial AOCS Ca 5a-40 (2004) adaptado segundo Rozário (2006).

Aproximadamente 1,0g de amostra e 10mL de tolueno foram transferidos para um erlenmeyer de capacidade 250mL. A mistura foi aquecida em banho-maria até a completa dissolução da amostra. Foram adicionados 100mL de álcool etílico recentemente neutralizado e procedeu-se a titulação com solução padronizada de NaOH 0,05M, com indicador fenolftaleína. O índice de acidez, expresso em mg de KOH necessários para neutralizar 1g de amostra, foi calculado seguindo a fórmula:

$$IA = (mgKOH.g^{-1}) = \frac{(V \times M \times 56,1)}{m}$$

onde:

V = volume gasto com a titulação da amostra (mL)

M = molaridade da solução

m = massa da amostra (g)

3.2.1.2 Índice de saponificação

O índice de saponificação foi determinado de acordo com o método oficial AOCS Cd 3-25 (2004) adaptado segundo Rozário (2006).

Pesou-se aproximadamente 0,5g de amostra em balão de fundo redondo de capacidade 250mL e adicionaram-se 25mL de toluol para a dissolução da cera em banho-maria. Após a completa dissolução da cera, foram adicionados à solução 50mL de KOH etanólico 0,7M. A solução foi mantida sob refluxo por 8 horas e, após o resfriamento, titulada com solução padronizada de HCl 0,5 M, utilizando-se fenolftaleína como indicador. Preparou-se um branco, sem amostra. O índice de saponificação, expresso mg de KOH necessários para saponificar 1g de amostra, foi calculado de acordo com a fórmula:

$$IS \text{ (mgKOH.g}^{-1}\text{)} = \frac{[(B - V) \times M \times 56,1]}{m}$$

onde:

B = volume gasto na titulação do branco (mL)

V = volume gasto na titulação da amostra (mL)

M = molaridade da solução

m = massa da amostra (g)

3.2.1.3 Índice de iodo

O índice de iodo foi determinado de acordo com o método oficial AOCS Cd 1d-92 (1997) adaptado segundo Rozario (2006).

Aproximadamente 0,5 g de amostra previamente seca foi dissolvido em 7,5 mL de ciclohexano em banho aquecido. Após o resfriamento, foram adicionados 7,5mL de ácido acético e 25mL de solução de cloro-iodo segundo Wijs. O frasco foi tampado e mantido no escuro por 1 hora. Foram adicionados 20mL de solução de KI 10% e 150mL de água destilada. A amostra foi titulada com solução padronizada de tiosulfato de sódio 0,1M, com solução de amido 1% como indicador. Preparou-se um branco, sem amostra. O índice de iodo, expresso

em mg de iodo absorvido por 100 mg de amostra, foi calculado de acordo com a fórmula:

$$I.I.(mg / 100g) = \frac{[(B - V) \times M \times 12,69]}{m}$$

onde:

B= volume gasto na titulação do branco (mL)

V = volume gasto na titulação da amostra (mL)

M = molaridade da solução

m = massa da amostra (g)

3.2.1.4 Teor de matéria insaponificável

O teor de matéria insaponificável foi determinado de acordo com método oficial AOCS Ca 6b-53 (2001) adaptado segundo Rozário (2006).

Cerca de 0,5 g de amostra foi dissolvido em 10 mL de tolueno em banho aquecido e adicionado de 3 mL de solução de KOH 50% e 50 mL de álcool etílico 95%. A mistura foi mantida em refluxo por 8 horas e, posteriormente, transferida para um funil de separação de capacidade de 250 mL, adicionando-se 50 mL de solução salina 5% e 50 mL de éter etílico. A fase etérea foi separada e, antes de ser transferida para um segundo funil, foi filtrada para a retirada de insolúveis concentrados na interface. Ao final de 5 extrações, as fases etéreas foram lavadas 3 vezes com porções de 20 mL de solução salina e, em seguida, mais 3 vezes com porções de 20 mL de solução de KOH 0,5 M, intercaladas com porções de água destilada. Após a terceira lavagem com KOH, a fração etérea foi lavada com água até teste com fenolftaleína e transferida para um balão tarado. O solvente foi evaporado da fração. O material foi seco em estufa a 105°C, até peso constante (A) e o resíduo foi dissolvido em 2 mL de éter etílico e 10 mL de álcool etílico 95%, previamente neutralizado e titulado com NaOH 0,02 M, para correção dos ácidos graxos livres (B). Foi realizado um branco (C), usando-se o mesmo procedimento. A matéria insaponificável foi calculada utilizando-se a fórmula:

$$MI(\%) = \{[A - (B + C)] / m\} \times 100$$

onde:

A = massa do resíduo (g)

B = massa dos ácidos graxos (g)

C = massa do teste branco (g)

m = massa da amostra (g)

3.2.1.5 Ponto de fusão por capilar aberto

O ponto de fusão foi determinado de acordo com o método oficial AOCS Cc 3-25 (2004).

3.2.1.6 Teste de Consistência (Penetração)

A consistência foi determinada pelo teste de penetração da agulha, de acordo com o método ASTM D 1321 (2002). Utilizou-se um Penetrômetro Modelo Universal, marca Petrodidática, com as amostras termostatzadas a 25°C.

3.2.1.7 Composição em ácidos graxos

A composição em ácidos graxos foi determinada por cromatografia gasosa segundo o método AOCS Ce 2-66 (2004). Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram preparados de acordo com a metodologia proposta por Hartmann e Lago (1973), modificando-se o tempo de saponificação para 20 minutos (GANDRA, 2006).

Utilizou-se um cromatógrafo (CGC Agilent 6850 series – Gc System) equipado com detector de ionização de chama (FID) e injetor com “split” e coluna capilar de sílica fundida LM-5 (L&M, polidifenildimetilsiloxano) com 30m de comprimento, 0,25mm de diâmetro interno e 0,30µm de espessura de filme. Amostras de 1,0µL foram injetadas (split 1:50). O injetor e o detector foram mantidos a 320°C. Foi utilizado hélio como gás de arraste, com vazão de 1,1 mL.min⁻¹.

A programação de temperatura na coluna foi de 180°C por 5min, 180 a 300°C (4°C.min⁻¹) e 300°C por 35min, totalizando 70 minutos.

A identificação dos picos foi realizada com base nos valores de tempo de retenção obtidos a partir de amostra de composição conhecida (óleo de mostarda), injetada nas mesmas condições. A integração por normalização de áreas foi realizada pelo software Agilent GC Chemstation Plus.

3.2.1.8 Teor e composição em álcoois graxos

Para a determinação quantitativa de álcoois graxos, em 50mg de amostra foram adicionados 1mg de álcool cetoestearílico (solução em clorofórmio) como padrão interno. A amostra foi preparada conforme procedimento descrito no item 3.2.1.7 para composição em ácidos graxos. Segundo Gandra (2006), as amostras de ceras possuem álcoois graxos de cadeia longa, os quais ficam retidos na fase etérea juntamente com os metil ésteres de ácidos graxos. Por isso, foi possível determinar, mediante uma única injeção cromatográfica, a composição em ácidos e álcoois graxos e teor de álcoois graxos presentes na cera.

Da mesma forma como na determinação da composição em ácidos graxos, a identificação dos picos foi realizada com base nos tempos de retenção de um padrão de composição conhecida (Lestanol^R), injetada nas mesmas condições. A integração por normalização de áreas foi realizada pelo software Agilent GC Chemstation Plus.

A concentração de policosanol nas amostras foi calculada com base na área do padrão interno e considerando-se fator de resposta ao detector igual a 2 comparado com o álcool graxo octacosanol (C28:0-OH) (vide item 4.1.3.1).

3.3 Procedimento Experimental

3.3.1 Caracterização da matéria-prima (cera clarificada e purificada)

A matéria-prima, denominada cera clarificada e purificada, foi caracterizada quanto aos seguintes parâmetros: índice de acidez, índice de saponificação, índice de iodo, teor de matéria insaponificável, ponto de fusão e teste de consistência. Também foi determinada a composição em ácidos e álcoois graxos, assim como o teor de álcoois graxos totais.

3.3.2 Estudo detalhado das condições do processo de obtenção do policosanol

Para estudar o processo de obtenção de policosanol, este trabalho teve como base o trabalho de Rozário (2006) (vide Figura 1), onde foram utilizadas três etapas básicas: saponificação da cera purificada, lavagem com solução salina e extração com etanol a frio. A matéria-prima utilizada em seu estudo foi a cera bruta, que foi previamente purificada para a remoção da fração resina (ou cera dura). No presente estudo, a matéria-prima utilizada foi a cera clarificada e purificada (remoção apenas da fração oleosa), que além de conter maior teor de álcoois totais que a cera purificada utilizada por Rozário (2006), é um produto que será produzido comercialmente em 2010.

Desta forma, partindo-se de uma matéria-prima diferente da utilizada por Rozário (2006), este trabalho visou à obtenção de policosanol através de um processo simplificado, utilizando as seguintes etapas:

- Saponificação da cera de cana-de-açúcar clarificada e purificada para obtenção de uma mistura de sabões e álcoois graxos;
- Estudo do processo de extração do policosanol;
- Processo simplificado de extração e purificação de policosanol;
- Escalonamento do processo pré-piloto.

A Figura 2 apresenta o esquema simplificado das etapas realizadas no estudo de obtenção de policosanol.

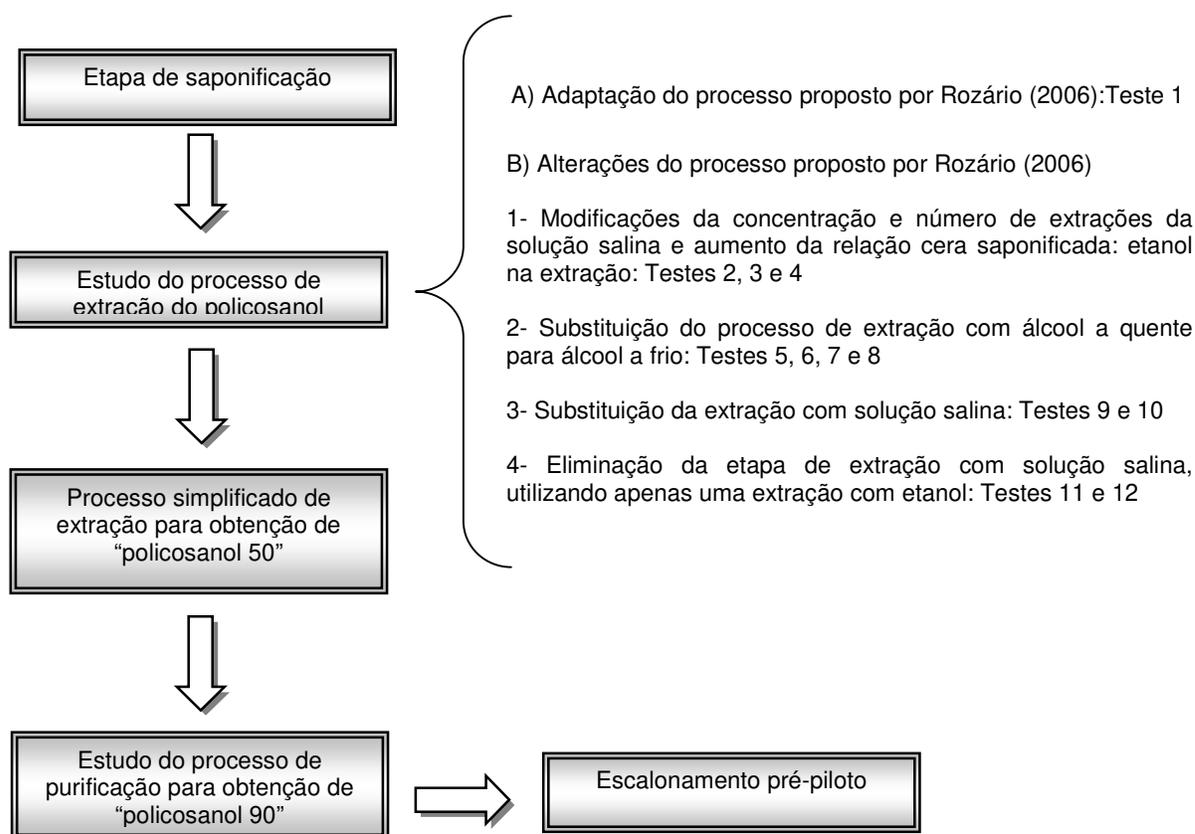


Figura 2. Etapas realizadas para obtenção de policosanol.

3.3.2.1 Saponificação

A saponificação da cera clarificada e purificada foi conduzida de acordo com Rozário (2006), utilizando soluções hidro-alcoólicas para manter a mistura no estado líquido, garantindo a agitação constante durante todo o processo de saponificação.

A reação de saponificação foi realizada em um sistema de um balão de duas bocas, adaptado a um condensador e um termômetro, o qual foi mantido em um banho de glicerol termostaticado com agitação magnética. A temperatura da reação foi mantida constante (80°C). Após a fusão completa da cera, foi adicionado a solução hidro-alcoólica (85% etanol anidro e

15% de água) 2M de NaOH obedecendo a relação de 1:1 (p/v) de cera:solução NaOH. A reação foi mantida por 15 minutos.

A cera clarificada, purificada e saponificada foi seca em estufa por 3 horas a 60°C para determinação do teor de álcoois graxos.

3.3.2.2 Estudo do processo de extração do policosanol

3.3.2.2.1 Adaptação do processo proposto por Rozário (2006): Teste 1

Este teste visou à adaptação do processo proposto por Rozário (2006) para cera clarificada e purificada (Figura 3), em que se utilizou a etapa de extração da cera saponificada com solução salina 10% e extração com etanol a frio.

Após a saponificação da amostra como descrito no item 3.3.2.1, adicionou-se à cera saponificada, solução de cloreto de sódio 10% mantendo a relação cera saponificada:solução salina em 1:7,5 (p/v). A mistura foi aquecida em chapa com agitação magnética, até atingir a temperatura de ebulição, mantendo-se nestas condições por 5 minutos. A solução foi resfriada à temperatura ambiente e posteriormente a 10°C por 1 hora em refrigerador. Após a filtração a vácuo, o resíduo (material retido no filtro) foi seco em estufa a 60°C/6 horas para determinação do teor dos álcoois graxos. O resíduo (cera saponificada) foi dissolvido em etanol (resíduo:etanol de 1:10 (p/v)). A mistura foi aquecida sob agitação constante até ebulição. Em seguida, interrompeu-se o aquecimento e agitação e a solução foi mantida em repouso por 1 minuto, para que as impurezas se depositassem no fundo. As impurezas foram separadas da solução de álcoois por decantação. A solução de álcoois foi resfriada à temperatura ambiente e posteriormente a 10°C por 1 hora. O material precipitado foi separado por filtração. O material retido no filtro (resíduo) foi seco em estufa (60°C/3horas) para a determinação do teor de álcoois graxos.

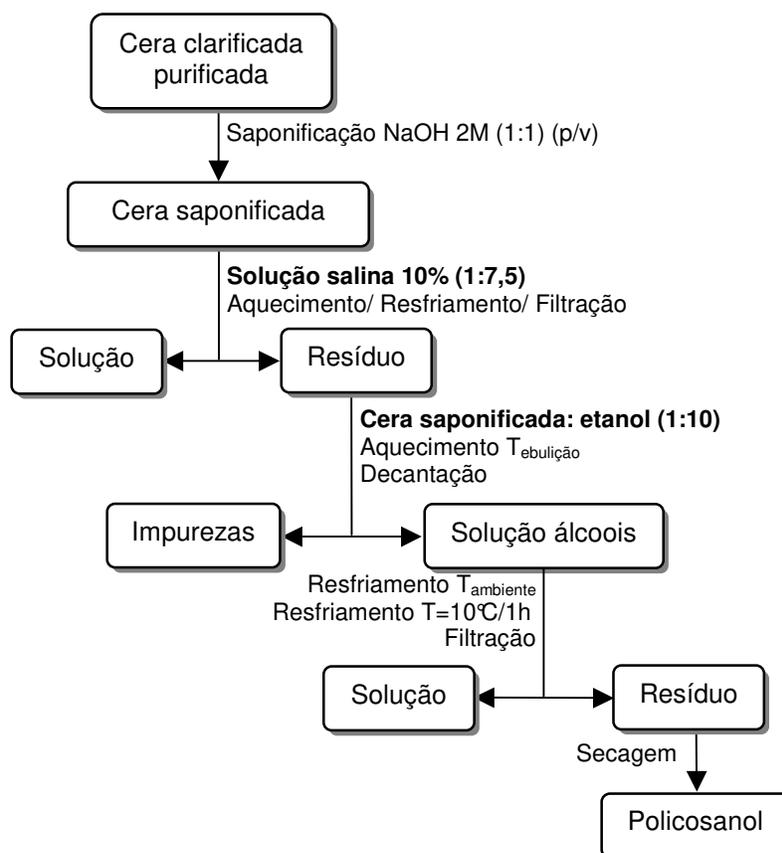


Figura 3. Fluxograma para a obtenção do policosanol, adaptado de Rozário (2006).

3.3.2.2.2 Alterações do processo proposto por Rozário (2006)

Foram testadas várias alterações dos parâmetros do processo, uma vez que a cera clarificada e purificada apresentou um comportamento diferente ao reportado por Rozário (2006). Os testes descritos abaixo foram conduzidos de forma a solucionar as dificuldades ocorridas durante a realização do Teste 1.

3.3.2.2.2.1 Modificações da concentração e número de extrações da solução salina e aumento da relação cera saponificada: etanol na extração

Teste 2: Uso de solução salina 15%

Este ensaio utilizou solução salina em maior concentração (15%), com o intuito de

impedir a formação de emulsão ocorrida com solução salina 10% para a matéria-prima utilizada. O procedimento encontra-se descrito no item 3.3.2.2.1, com alteração apenas da concentração da solução salina (Figura 3).

Teste 3: Aumento da relação cera saponificada:etanol para 1:20 (p/v)

Neste teste, aumentou-se a quantidade de etanol adicionada à cera saponificada e lavada com solução salina 15% (resíduo) na tentativa de se obter 2 fases para uma melhor filtração da solução de álcoois.

O procedimento utilizado está descrito no item 3.3.2.2.1 e na Figura 3, observando a modificação da quantidade de etanol empregada para 1:20 (p/v).

Teste 4: Extrações (4) com solução salina 15%

O Teste 4 foi conduzido da mesma maneira que o Teste 2, porém, utilizaram-se 4 extrações com solução salina 15% com o objetivo de se retirar a maior quantidade de sabão produzido na etapa de saponificação (vide procedimento descrito no item 3.3.2.2.1 e Figura 3).

3.3.2.2.2 Substituição do processo de extração com álcool a quente para álcool a frio

Diante das dificuldades apresentadas durante a realização dos testes descritos anteriormente, os ensaios a seguir, foram conduzidos de forma a eliminar tais limitações, visando à obtenção de um produto com alto teor de álcoois graxos.

Teste 5: Extração com solução salina e 2 extrações com etanol anidro a frio na relação 1:10 (p/v)

No Teste 5 (Figura 4) não se realizou a etapa de separação de impurezas proposta por Rozário (2006), utilizando etanol a quente. Após a extração com solução salina 15%, testou-se dissolver o material em etanol anidro a 10°C, conforme descrito a seguir.

Após a saponificação da amostra descrito no item 3.3.2.1, adicionou-se à cera saponificada, solução de cloreto de sódio 15% (relação cera saponificada:solução salina de 1:7,5 (p/v)). A mistura foi aquecida em chapa com agitação magnética, até atingir a temperatura de ebulição, mantendo-se nestas condições por 5 minutos. A solução foi então resfriada à temperatura ambiente e posteriormente a 10°C por 1 hora em refrigerador. Após a filtração a vácuo, o material retido no filtro (resíduo) foi seco em estufa a 60°C/ 6 horas para análise. O resíduo (cera saponificada) foi dissolvido em etanol, de acordo com a relação resíduo:etanol de 1:10 (p/v). A mistura foi mantida sob agitação constante por 1 hora a 10°C e posteriormente filtrada. Repetiu-se o processo de adição de etanol com o material retido no filtro. O resíduo foi seco em estufa (60°C/3horas) para a determinação do teor de álcoois graxos.

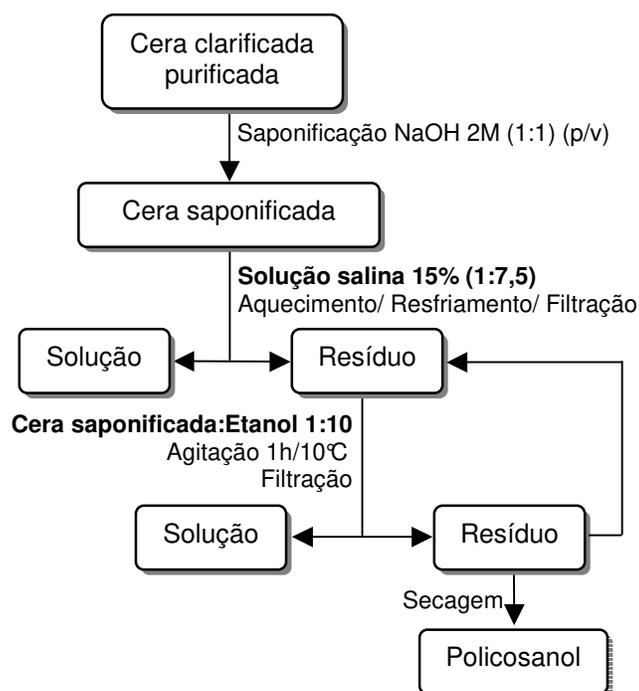


Figura 4. Fluxograma da extração com solução salina e com etanol a frio para obtenção de policosanol.

Teste 6: Extrações (3) com solução salina 15% e 1 extração com etanol a frio na relação 1:10 (p/v)

Este ensaio estudou o efeito de 3 extrações com solução salina 15%. A Figura 4 representa o processo utilizado para este ensaio, com a modificação do número de extração com solução salina (3) e do número de extrações com etanol frio (1).

Após a saponificação da amostra descrito no item 3.3.2.1, adicionou-se à cera saponificada, solução de cloreto de sódio 15% (relação cera saponificada:solução salina de 1:7,5 (p/v)). A mistura foi aquecida em chapa com agitação magnética, até atingir a temperatura de ebulição, mantendo-se nestas condições por 5 minutos. A solução foi resfriada à temperatura ambiente e posteriormente a 10°C por 1 hora em refrigerador. Após a filtração a vácuo, as outras duas lavagens foram efetuadas. O material retido no filtro (resíduo), após as 3 extrações, foi seco em estufa a 60°C/ 6 horas (para análise). O resíduo foi dissolvido em etanol, de acordo com a relação massa resíduo:volume etanol de 1:10 (p/v). A mistura foi mantida sob agitação constante por 1 hora a 10°C e posteriormente filtrada. O resíduo foi seco em estufa (60°C/3horas) para a determinação do teor de álcoois graxos.

Teste 7: Extração com solução salina 15% e 2 extrações com etanol a frio na relação 1:20 (p/v)

Este ensaio foi realizado da mesma maneira que o Teste 5 (Figura 4), porém a relação massa cera saponificada lavada:volume etanol foi elevada para 1:20 (p/v).

Teste 8: Extrações (2) com solução salina: etanol (1:1) e extração com etanol a frio na relação 1:10 (p/v)

Neste ensaio estudou-se o efeito da extração com uma solução composta de solução salina e etanol nas mesmas proporções, seguido da extração de etanol frio, sobre o teor de

álcoois graxos final (Figura 5).

Após a saponificação da amostra descrito no item 3.3.2.1, adicionou-se à cera saponificada, solução etanol anidro e solução salina 15% (1:1, v/v), obedecendo à relação de cera saponificada: solução (solução salina + etanol) de 1:7,5 (p/v). A mistura foi aquecida em chapa com agitação magnética, na temperatura de 70°C (abaixo do ponto de ebulição do etanol) por 1 hora. A solução foi resfriada à temperatura ambiente e posteriormente centrifugada. Ao precipitado recolhido do processo de centrifugação, adicionou-se novamente a solução (solução salina 15% e etanol) para a repetição do processo. Após a centrifugação da amostra, etanol foi adicionado, obedecendo a relação de massa precipitado:volume etanol de 1:10 (p/v). A mistura foi mantida sob agitação constante por 1 hora a 10°C e posteriormente filtrada. O resíduo foi seco em estufa (60°C/3horas) para a determinação do teor de álcoois graxos.

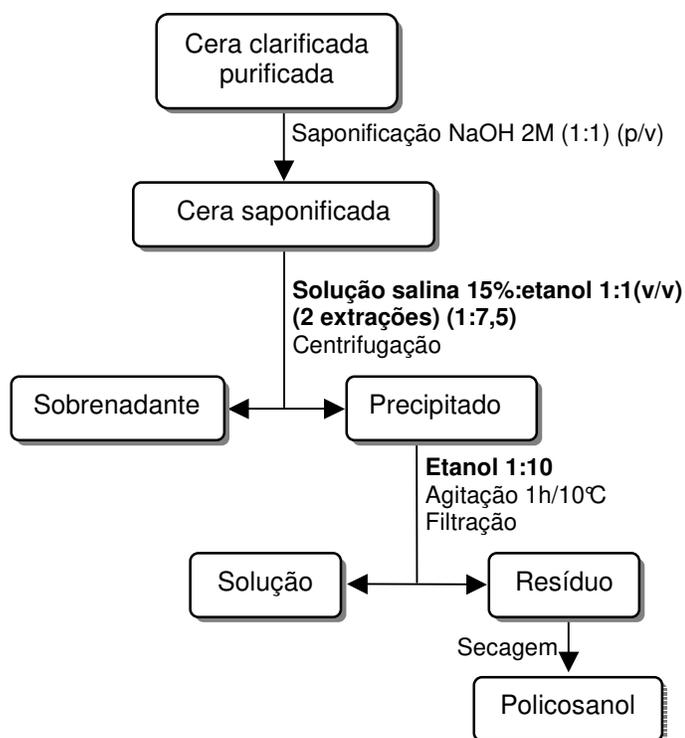


Figura 5. Fluxograma de extração com solução salina e etanol (1:1) seguida da extração com etanol a frio, para obtenção de policosanol.

3.3.2.2.3 Substituição da extração com solução salina

Teste 9: Solução água: etanol (1:1)

Neste ensaio determinou-se a eficiência de uma solução composta de água e etanol (1:1), seguido da extração em etanol a frio na retirada dos sabões (Figura 6).

Após a saponificação da amostra descrita no item 3.3.2.1, adicionou-se à cera saponificada, solução de água e etanol anidro (1:1, v/v), obedecendo à relação de cera saponificada:solução (água + etanol) de 1:7,5 (p/v). A mistura foi aquecida em chapa com agitação magnética, na temperatura de 70°C (abaixo do ponto de ebulição do etanol) por 1 hora. A solução foi resfriada à temperatura ambiente e posteriormente centrifugada. Ao precipitado recolhido do processo de centrifugação, adicionou-se novamente solução de água e etanol para a repetição do processo. Após a centrifugação da amostra, etanol foi adicionado, obedecendo à relação de massa precipitado:volume etanol de 1:10 (p/v). A mistura foi mantida sob agitação constante por 1 hora a 10°C e posteriormente filtrada. O resíduo foi seco em estufa (60°C/3horas) para a determinação do teor de álcoois graxos.

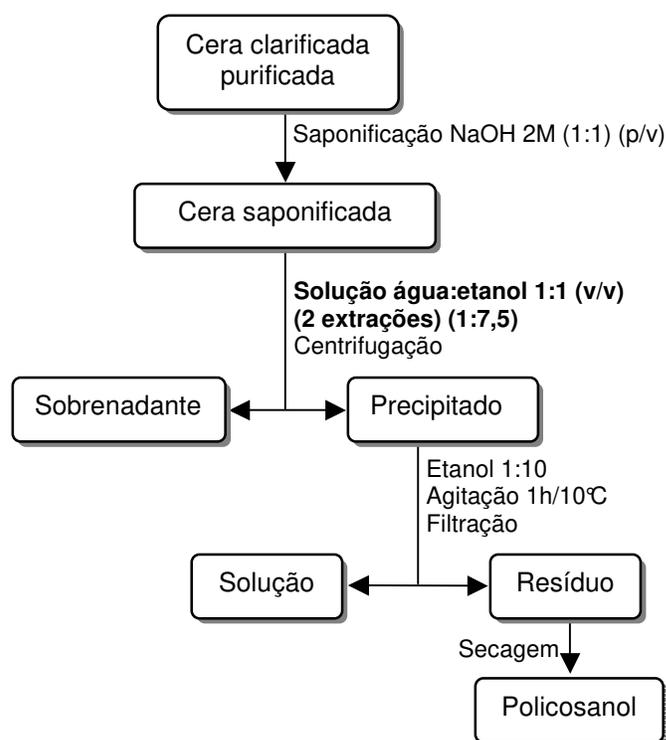


Figura 6. Fluxograma da extração com água:etanol seguido da extração com álcool a frio, para a obtenção do policosanol.

Teste 10: Água quente

Neste ensaio, utilizaram-se 3 extrações com água quente em substituição à solução água:etanol (Teste 9), na tentativa de se separar os sabões formados na etapa de saponificação. O procedimento adotado foi o mesmo descrito no teste 9 (Figura 6), porém com a utilização de água quente.

3.3.2.2.4 Eliminação da etapa de extração com solução salina/etanol/água, utilizando apenas extração com etanol

Teste 11: Extração da cera saponificada com etanol a frio

Neste teste, a etapa de extração, seja com solução salina, etanol e água quente, foi eliminada com o objetivo de se estudar se esta operação contribui para a obtenção de um produto com alto teor de álcoois graxos. Após a saponificação da amostra descrito no item 3.3.2.1, a cera saponificada foi dissolvida em etanol, de acordo com a relação massa cera saponificada:volume etanol de 1:20 (p/v). A mistura foi mantida sob agitação constante por 1 hora a 10°C e posteriormente filtrada. O resíduo foi seco em estufa (60°C/3horas) para a determinação do teor de álcoois graxos. A Figura 7 apresenta o fluxograma do ensaio.

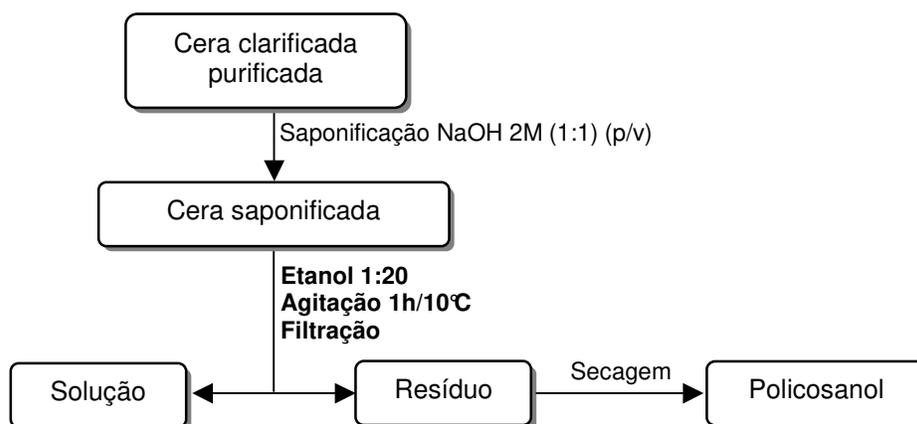


Figura 7. Fluxograma da extração com etanol a frio para obtenção de policosanol.

Teste 12: Extração da cera saponificada com etanol a quente

Neste ensaio, avaliou-se o comportamento dos componentes presentes na cera saponificada em etanol quente, sem a utilização da solução salina, etanol e água quente.

À cera saponificada adicionou-se etanol anidro de acordo com a relação cera saponificada:solvente de 1:10 (p/v). O sistema foi mantido a 75°C por 1 hora para a separação de duas fases. Decorrido este tempo, as fases foram separadas e o processo foi repetido mais

4 vezes. O etanol presente na fração solúvel foi recuperado e a amostra foi seca em estufa a 60°C/3horas. O mesmo foi feito com o material insolúvel separado. As duas amostras foram analisadas quanto ao teor de álcoois graxos.

A Figura 8 apresenta o fluxograma deste ensaio.

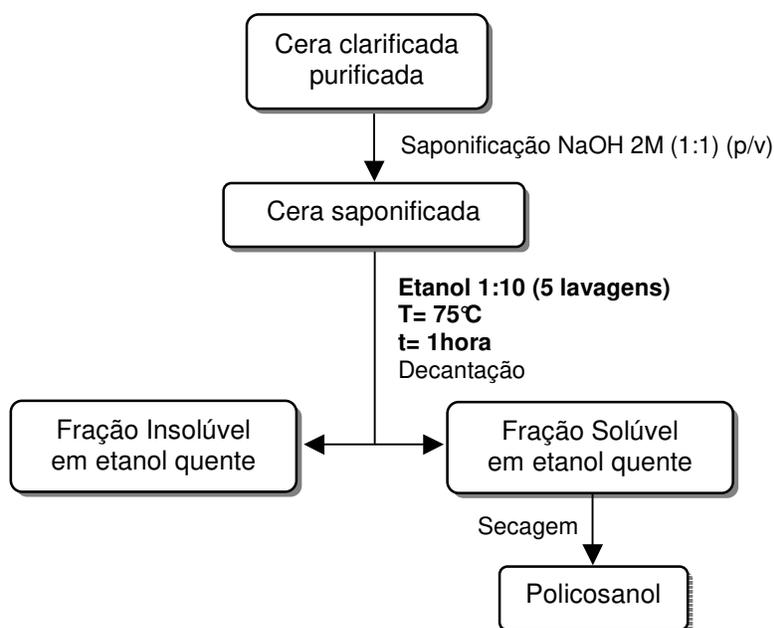


Figura 8. Fluxograma da extração com etanol a quente para obtenção do policosanol.

3.3.2.3 Processo simplificado de extração e purificação do policosanol

3.3.2.3.1 Determinação das condições de operação do processo selecionado para obtenção de “policosanol 50”

Utilizando as condições das etapas de saponificação e do Teste 12 (Figura 8), dez ensaios foram realizados com o objetivo de se obter o maior teor de álcoois graxos, com a menor quantidade de etanol possível. Para isso, relações de massa de cera saponificada: volume de etanol de 1:5, 1:7,5, 1:10, 1:15 e 1:20 e com 1 e 2 extrações foram estudadas.

Tabela 11. Relação de cera saponificada: etanol (p/v) e número de extrações dos 10 ensaios testados para obtenção de “policosanol 50”.

Ensaio	Relação cera saponificada: etanol (p/v)	Número de extrações
1	1:5	1
2	1:5	2
3	1:7,5	1
4	1:7,5	2
5	1:10	1
6	1:10	2
7	1:15	1
8	1:15	2
9	1:20	1
10	1:20	2

3.3.2.3.2 Estudo do processo de obtenção de “policosanol 90”

Objetivando a obtenção um produto com alto teor em álcoois graxos, foram realizados ensaios laboratoriais de purificação do “policosanol 50” com acetona, de acordo com Rozário (2006). Em um erlenmeyer acoplado a um condensador e com agitação magnética, foram colocados o “policosanol 50” e uma quantidade definida de acetona. A mistura foi aquecida com agitação constante, utilizando-se uma chapa aquecedora, e mantida em refluxo por 30 minutos. Posteriormente, o conteúdo foi filtrado a quente. A acetona presente na fração solúvel foi recuperada e a amostra foi seca em estufa a 60°C/3h oras. O mesmo foi feito com o material insolúvel separado. A duas amostras foram analisadas quanto ao teor de álcoois graxos e rendimento do processo.

A Figura 9 apresenta o fluxograma do processo de obtenção do “policosanol 90”. Após a definição do processo de obtenção do “policosanol 50”, diferentes relações de policosanol 50:acetona (p/v) foram estudadas: 1:10, 1:15, 1:20 e 1:30.

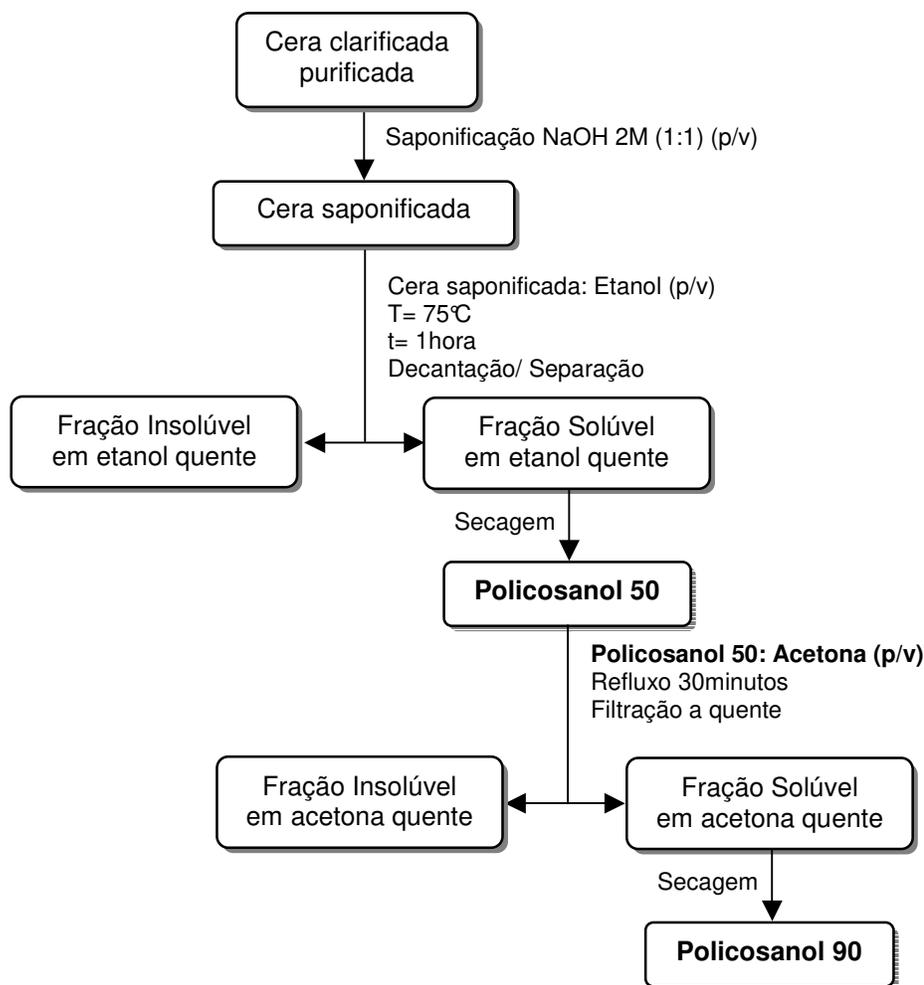


Figura 9. Fluxograma do processo de extração com etanol a quente para obtenção de “policosanol 50”, seguido da extração com acetona para obtenção do “policosanol 90”.

3.3.2.4 Escalonamento pré-piloto

3.3.2.4.1 Obtenção de “policosanol 50”

A obtenção de “policosanol 50” em planta piloto (Figura 10) foi conduzida em reator de vidro encamisado com capacidade para 5 litros com agitação mecânica. Para o processo de saponificação 500g de cera clarificada e purificada foram adicionadas no reator e, após completa fusão do material, adicionou-se 500mL de solução hidro-alcoólica 2M de NaOH. A

mistura foi mantida à temperatura de 80°C sob agitação mecânica por 15 minutos para a completa reação.

À cera saponificada, adicionaram-se 1,5L de etanol anidro (1:3 p/v); mantendo-se a mistura em repouso por 1 hora à temperatura de 70°C para separação das fases. A fração solúvel foi recolhida e ao resíduo adicionou-se 1 litro de etanol anidro (1:2 p/v cera:etanol). Após repouso de 1 hora/70°C, a fração solúvel foi recolhida e ao resíduo adicionou-se novamente 1L de etanol anidro (1:2 p/v cera:etanol). Após 1 hora em repouso, a fração solúvel foi recolhida e misturada às outras duas frações recolhidas anteriormente.

Recuperou-se o solvente presente na mistura (frações solúveis em etanol) e levou-se à estufa a 60°C para remoção do etanol residual. O produto obtido (“policosanol 50”) foi analisado quanto ao teor de álcoois graxos (%) e rendimento (%).

3.3.2.4.2 Obtenção de “policosanol 90”

O “Policosanol 90” foi obtido a partir da massa de “policosanol 50” obtido no item 3.3.2.4.1 com solvente acetona (Figura 10). Adicionou-se ao “policosanol 50” um volume de acetona, obedecendo à relação massa policosanol:volume acetona de 1:5. A mistura foi mantida sob agitação em refluxo por 30 minutos a 58°C; e após 20 minutos de repouso, a fração solúvel foi recolhida e processo foi repetido. O material recolhido foi concentrado em estufa com circulação de ar à temperatura ambiente até remoção da acetona. O produto obtido (“policosanol 90”) foi analisado quanto ao teor de álcoois graxos (%) e rendimento (%).

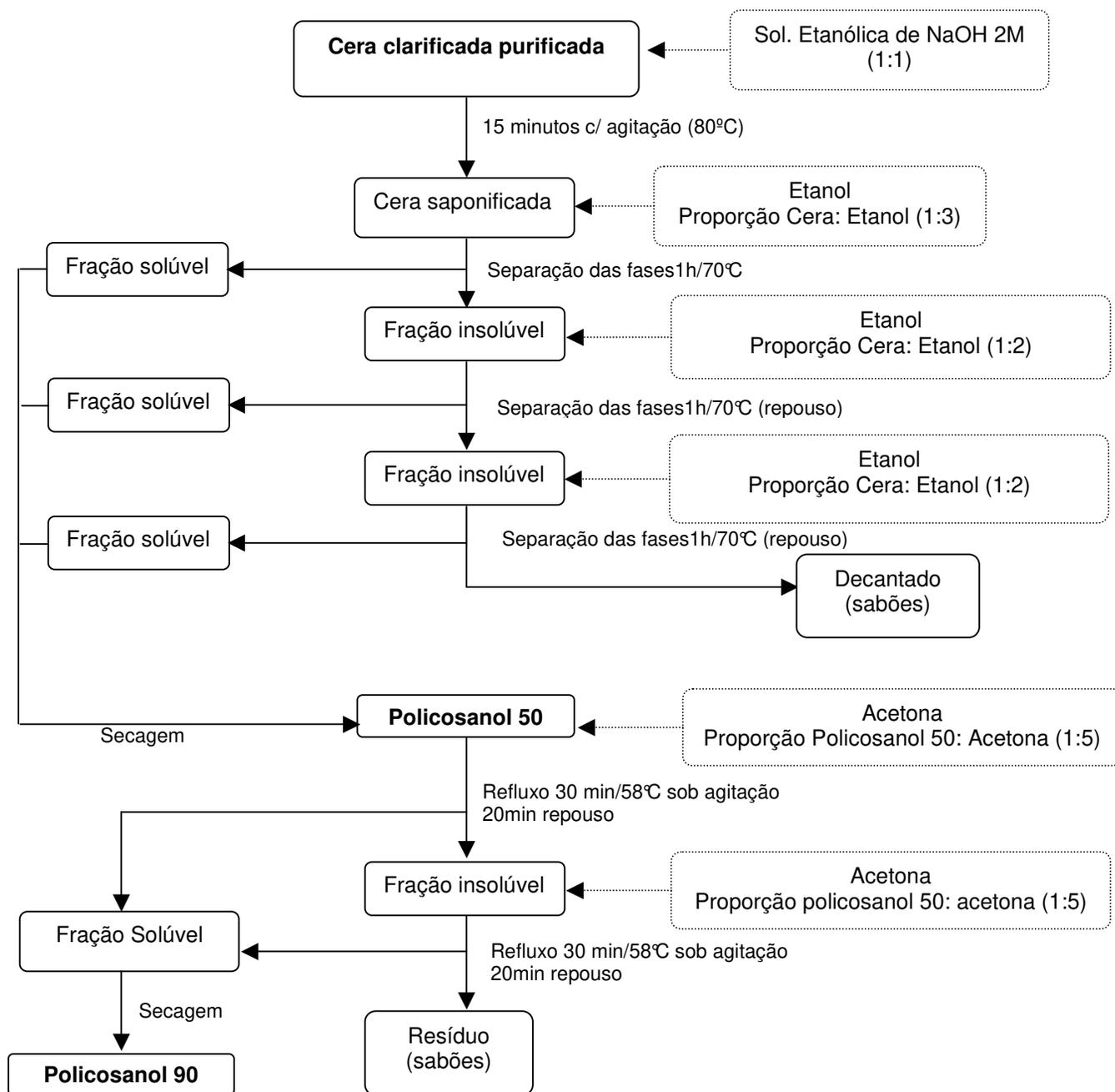


Figura 10. Fluxograma do processo de obtenção de “policosanol 50” e “policosanol 90” em planta piloto.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização e composição da cera clarificada e purificada de cana-de-açúcar

4.1.1 Características físico-químicas da cera

A Tabela 12 apresenta as características físico-químicas da cera de cana-de-açúcar clarificada e purificada.

Tabela 12. Características físico-químicas da cera de cana-de-açúcar clarificada e purificada.

Análises *	Média	Desvio padrão
Índice de acidez (mg KOH/g)	13	0,09
Índice de saponificação (mg KOH/g)	96	0,27
Índice de iodo (mg de iodo/100g)	21	0,15
Teor de matéria insaponificável (%)	48,5	1,89
Ponto de fusão (°C)	75	0,05
Penetração (dmm), 25°C	1,47	0,06

* cada valor é a média de 3 repetições.

O valor de índice de acidez da cera de cana-de-açúcar estudada neste trabalho ($13 \pm 0,09$ mg KOH/g) foi menor que o reportado por Vieira (2003), Gandra (2006), Rozário (2006) e Garcia & Garcia (1996) para a cera bruta, seja de origem orgânica ou mista. Vieira (2003) encontrou valores de 52 e 44 mg KOH/g para cera bruta orgânica e queimada respectivamente. Gandra (2006) reportou valores menores aos apresentados por Vieira (2003), de 36,2 KOH/g para cera bruta orgânica e de 34 mg KOH/g para cera bruta mista. Rozário (2006) e Garcia & Garcia (1996) apresentaram IA de 27 e 33 mg KOH/g para cera bruta, respectivamente.

A cera de cana-de-açúcar utilizada neste trabalho foi clarificada com peróxido de hidrogênio e extraída com etanol frio para a retirada da fração oleosa. Deste modo, como era de se esperar, o valor de índice de acidez foi inferior ao de uma cera bruta, devido ao fato dos ácidos graxos livres serem retirados no processo. Gandra (2006) caracterizou a fração óleo de cera de cana-de-açúcar, o qual apresentou índice de acidez de 59 mg KOH/g.

Dados da literatura sobre o teor de IA da cera de cana-de-açúcar purificada foram reportados por Vieira (2003), Gandra (2006) e Rozário (2006). Vieira encontrou valores de IA de 20 e 17 mg KOH/g para cera purificada de cana-de-açúcar orgânica e queimada, respectivamente. Gandra (2006) apresentou valor de índice de acidez de 23 mg KOH/g para cera purificada de cana-de-açúcar orgânica e mista. Rozário (2006) reportou valor de 40 mg KOH/g para índice de acidez de cera de cana-de-açúcar purificada.

Como não consta na literatura a caracterização de uma cera composta da fração cera purificada + cera dura (fração estudada neste trabalho), é possível fazer uma média ponderada dos valores das propriedades físico-químicas da cera purificada e da cera dura permitindo uma comparação com o material estudado. Segundo Gandra (2006) a cera é composta por aproximadamente 63,8% de cera purificada, 10,4% de cera dura e 25,2% de óleo. Se a cera purificada (cana orgânica) apresentou IA de 23 mg KOH/g e a cera dura 15 mg KOH/g, então uma fração “cera purificada + cera dura” apresentaria um valor aproximado de 16 mg KOH/g. Sendo assim, pode-se concluir que o valor encontrado para o índice de acidez de 13 mg KOH/g encontra-se próximo ao valor esperado, onde a variação entre estes valores pode estar associada ao modo como foi feita a extração com o etanol frio. A extração com etanol frio foi bastante eficiente na retirada da fração oleosa, contribuindo para o baixo valor do índice de acidez encontrado.

Uma análise semelhante à efetivada com o índice de acidez pode ser realizada a respeito dos índices de saponificação e iodo. As ceras brutas de cana-de-açúcar apresentam maiores valores destes índices quando comparada aos das ceras purificadas.

Os índices de saponificação reportados por Vieira (2003) foram de 123 e 78 mg KOH/g para cera bruta e cera purificada de cana-de-açúcar orgânica, respectivamente. Gandra (2006) apresentou valores de 116 e 79 mg KOH/g para cera bruta e cera purificada de cana-de-açúcar orgânica, respectivamente; e 117 e 78 mg KOH/g para cera bruta e cera purificada de cana-de-açúcar mista, respectivamente.

O valor encontrado para o índice de saponificação de $96 \pm 0,27$ mg KOH/g encontra-se próximo aos valores encontrados na literatura para a cera purificada. É importante observar que não foi encontrado na literatura a caracterização de uma cera semelhante à estudada.

Com relação ao índice de iodo, o valor de $21 \pm 0,15$ mg de iodo/100g pode ser comparável com o índice de iodo de uma cera purificada. Gandra (2006) reportou valores de 22 e 21 mg de iodo/100g para cera purificada de cana orgânica e mista, respectivamente. Garcia & Garcia (1996) reportaram um valor de 21 mg de iodo/100g, ou seja, bastante próximo ao obtido no presente estudo.

Como o processo de purificação retira o óleo (triacilgliceróis e ácidos graxos) presente na cera, substâncias saponificáveis são removidas. Desta forma, a cera estudada possui menor quantidade de matéria saponificável e de ácidos graxos insaturados, apresentando assim, índices de saponificação e iodo menores que os da cera bruta.

O valor encontrado para o teor de matéria insaponificável da cera clarificada e purificada foi de $48,5 \pm 1,89$ %. Valores próximos foram reportados por Vieira (2003): de 56% para cera purificada de cana orgânica e de 57 para purificada de cana queimada e por Rozário (2006) de 51% para cera purificada de cana orgânica. Para a cera bruta, Vieira (2003) encontrou valores de 35,5% (cera bruta de cana orgânica) e 36% (cera bruta de cana queimada) e Rozário (2006) reportou valor de 32% de teor de matéria insaponificável. Através dos valores apresentados acima, pode-se concluir que o processo de purificação aumentou o teor de matéria insaponificável da cera, isto porque o material saponificável (fração oleosa) foi removido.

Com relação ao ponto de fusão (PF), o valor encontrado de $75 \pm 0,05$ °C é bastante próximo aos valores reportados pela literatura. Analisando a Tabela 7, é possível observar que o PF da cera bruta de cana variou de 72 a 79°C, entre os diferentes autores. Enquanto que o PF da cera de cana purificada variou de 70 a 78°C. De acordo com Frutuoso (1989), o ponto de fusão das ceras depende principalmente da proporção dos seus constituintes e da variedade de

cana cultivada.

O ponto de fusão da cera de cana (75°C) apresentou-se inferior ao ponto de fusão de outros tipos de cera reportados pela literatura: cera de grão de sorgo, 84,9° (Weller et al.,2000); cera de carnaúba, 78-86°C (Greener-Donhowe & Fennema, 1993) e cera de farelo de arroz refinada, 75-78°C (Vali et al.,2002). Porém, ao comparar o ponto de fusão de cera de abelha com o da cera de cana, este se apresentou superior. De acordo com Bernal et al. (2005), a cera de abelha possui PF de 65,4°C.

Os valores para consistência reportados por Gandra (2006) foram de 7,2, 2,3 e 1,5dmm para as ceras bruta, purificada e dura de cana orgânica, respectivamente; e de 6,9, 2,1 e 1,6dmm para as ceras bruta, purificada e dura de cana mista, respectivamente. A cera estudada por Gandra (2006) foi constituída por aproximadamente 63,8% de cera purificada, 10,4% de cera dura e 25,2% de óleo. Desta maneira, através de uma média ponderada entre os valores da cera purificada e da cera dura, o valor de 1,5 dmm é obtido. O valor encontrado neste trabalho ($1,47 \pm 0,06$ dmm) apresenta-se bastante próximo ao valor calculado.

4.1.2 Composição em ácidos e álcoois graxos da cera

A Figura 11 apresenta um cromatograma da composição em ácidos e álcoois graxos da cera de cana-de-açúcar clarificada e purificada. Os ácidos graxos estão representados por números e os álcoois graxos por letras.

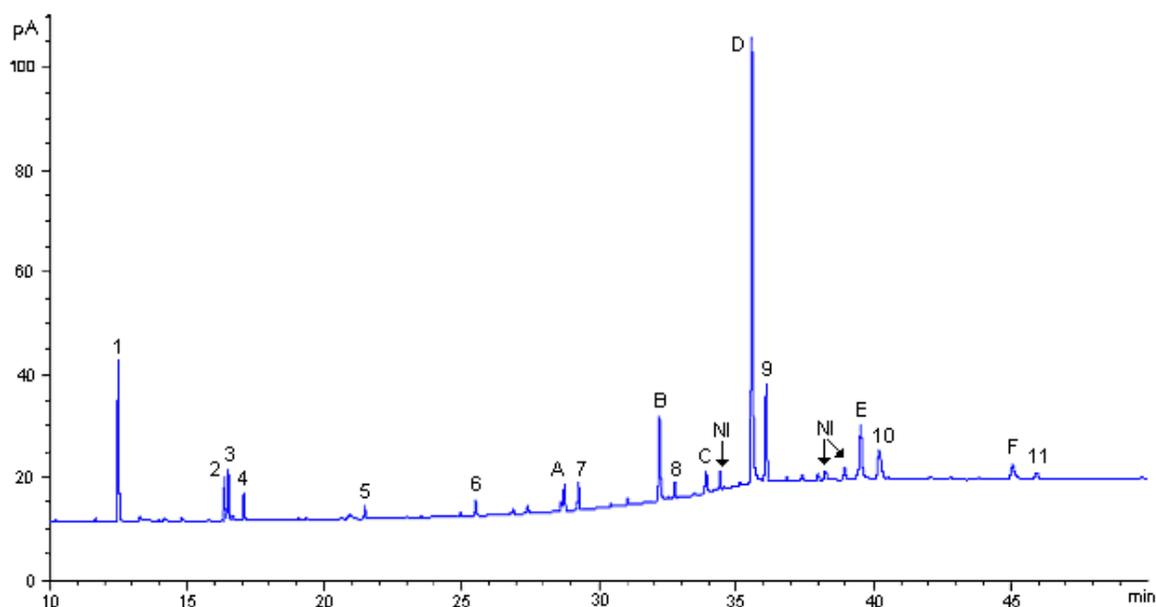


Figura 11. Cromatograma de ácidos e álcoois graxos da cera purificada e clarificada. 1:ácido palmítico (C16:0); 2: ácido linolênico (C18:3); 3: ácido oléico e linoléico (18:1 e C18:2); 4: ácido esteárico (C18:0); 5: ácido icosanóico (C20:0); 6: ácido docosanoíco (C22:0); 7: ácido tetracosanoíco (24:0); 8:ácido hexacosanoíco (C26:0); 9: ácido octacosanoíco (C28:0); 10: ácido triacontanoíco (C30:0); 11: ácido dotriacontanoíco (C32:0); A: tetracosanol (24C); B: hexacosanol (C26); C: heptacosanol (C27); D: octacosanol (C28); E: triacontanol (30); F: dotriacontanol (C32); NI: não identificados.

A Tabela 13 apresenta a composição em ácidos graxos da cera. As proporções relativas dos ácidos graxos oléico e linoléico apresentam-se somadas, uma vez que a coluna cromatográfica utilizada não foi capaz de separá-los. Os ácidos graxos em maiores proporções na cera são: o ácido palmítico (C16:0), octacosanoíco (28:0), triacontanoíco (C30:0), oléico e linoléico (C18:1+C18:2) e linolênico (C18:3), contribuindo com 26,68%; 20,13%; 13,08%; 10,11%; 7,97%; respectivamente.

Tabela 13. Composição (%) em ácidos graxos da cera de cana-de-açúcar clarificada e purificada.

Ácido graxo	Nome do ácido	Média (%)	Desvio padrão
16:0	Palmítico	26,68	1,87
18:3	Linolênico	7,97	0,45
18:2 e 18:1	Oléico e Linoléico	10,11	0,56
18:0	Esteárico	5,51	0,67
20:0	Icosanóico (Araquídico)	2,44	0,23
22:0	Docosanóico	2,90	0,20
24:0	Tetracosanóico	5,26	0,36
26:0	Hexanosanóico	3,05	0,02
28:0	Octacosanóico	20,13	1,12
30:0	Triacontanóico	13,08	0,32
32:0	Dotriacontanóico	2,89	0,46
	Saturados (%)		81,92
	Insaturados (%)		18,08

A amostra de cera apresenta 82% de ácidos graxos saturados e 18% de ácidos graxos insaturados. Gandra (2006) apresentou teores de 78,6 e 77,9% de ácidos graxos saturados nas ceras purificadas de cana orgânica e mista, respectivamente e teores de 89,7 e 90,6% de saturados nas ceras duras de cana orgânica e mista, respectivamente.

Na Tabela 14 é apresentado uma análise comparativa das ceras, podendo-se concluir que a cera estudada apresentou composição em ácidos graxos semelhante à cera purificada orgânica caracterizada por Gandra (2006). A cera purificada orgânica avaliada por Vieira (2003) não apresentou ácido graxo linolênico (C18:3), porém é formada por uma considerável quantidade do ácido graxo octacosanóico (C28:0) e tetracosanóico (C24:0). O ácido graxo C34:0 não foi encontrado na cera analisada.

Tabela 14. Composição (%) em ácidos graxos da cera de cana-de-açúcar orgânica.

Ácido graxo	Cera estudada	Cera purificada**	Cera dura**	Cera purificada*
16:0	26,68	25,7	37,3	19,44
18:3	7,97	10,7	2,3	-
18:2 e 18:1	10,11	10,0	7,8	2,89+1,27
18:0	5,51	4,6	3,8	2,95
20:1	-	0,7	-	-
20:0	2,44	2,1	2,0	tr
22:0	2,90	1,7	2,2	tr
24:0	5,26	3,8	3,9	19,46
26:0	3,05	2,8	2,5	3,54
28:0	20,13	20,0	19,7	34,65
30:0	13,08	11,3	9,2	7,18
32:0	2,89	3,4	4,6	2,72
34:0	-	3,2	4,5	1,47

* Fonte: Vieira (2003)

** Fonte: Gandra (2006)

tr=<1%

É importante observar que a cera estudada é composta pelas frações cera purificada e cera dura. Nos valores apresentados na Tabela 14, a composição em ácidos graxos da cera dura é bastante semelhante à composição em ácidos graxos da cera estudada e da cera purificada.

A Tabela 15 apresenta a composição em álcoois graxos da cera (proporção relativa dos álcoois graxos totais). A cera apresentou álcoois graxos saturados de 24 a 32 carbonos, sendo que o principal componente foi o octacosanol, contribuindo com mais de 64% do total dos álcoois graxos presentes.

Tabela 15. Composição (%) em álcoois graxos da cera de cana-de-açúcar clarificada e purificada.

Álcool graxo	Nome do álcool	Média (%)	Desvio padrão
24 C	Tetracosanol	4,28	0,26
26 C	Hexanosanol	13,09	0,64
27 C	Heptacosanol	2,96	0,07
28 C	Octacosanol	64,56	0,40
30 C	Triacontanol	11,16	0,61
32 C	Dotriacontanol	3,95	0,41

A Tabela 16 mostra a comparação da composição em álcoois graxos das ceras purificadas obtida por diferentes autores. Observa-se que em todos os casos, o octacosanol foi o principal componente presente na cera de cana-de-açúcar. O álcool graxo com 29 carbonos não foi encontrado neste estudo e no estudo de Vieira (2003). Vieira (2003) também não detectou a presença de álcool graxo de 27 carbonos, enquanto que na cera estudada e em outros estudos (Gandra, 2006 e Rozário, 2006) foram encontrados em torno de 3% deste álcool. Estas variações na composição das ceras analisadas devem-se ao método de análise (Vieira (2003) utilizou derivatização por Grignard), ao tipo de tratamento aplicado para a purificação, variedade da cana, entre outras variáveis.

Tabela 16. Composição (%) em álcoois graxos da cera de cana-de-açúcar orgânica.

Álcool graxo	Cera estudada	Cera purificada*	Cera purificada**	Cera purificada***
24 C	4,28	7,09	1,0	1,8
26 C	13,09	8,90	13,1	15,3
27 C	2,96	-	3,2	3,1
28 C	64,56	67,28	62,4	59,3
29C	-	-	6,0	9,7
30 C	11,16	11,06	9,8	8,2
32 C	3,95	5,57	4,4	2,6
34C	-	tr	-	-

* Fonte: Vieira (2003)

** Fonte: Gandra (2006)

*** Fonte: Rozário (2006)

tr=<1%

4.1.3 Cálculo do teor de álcoois graxos

4.1.3.1 Estudo do fator de resposta dos álcoois graxos ao detector

Considerou-se que todos os álcoois graxos presentes nas ceras apresentam o mesmo fator de resposta ao detector que o octacosanol. Sendo o octacosanol (C28) o álcool graxo predominante na cera, o estudo do fator de resposta foi baseado neste álcool.

Desta maneira injetaram-se diferentes concentrações conhecidas de padrão octacosanol e uma concentração conhecida do padrão interno (álcool cetosteárico C16:0-OH +C18:0-OH), conforme Tabela 17. A curva de calibração do octacosanol está apresentada na Figura 12.

Tabela 17. Concentrações conhecidas do padrão interno e octacosanol.

Cromatogramas	Padrão interno (mg/ml)	Padrão Octacosanol (C28)(mg/ml)
Amostra 1	1	0,3
Amostra 2	1	0,5
Amostra 3	1	0,7
Amostra 4	1	1

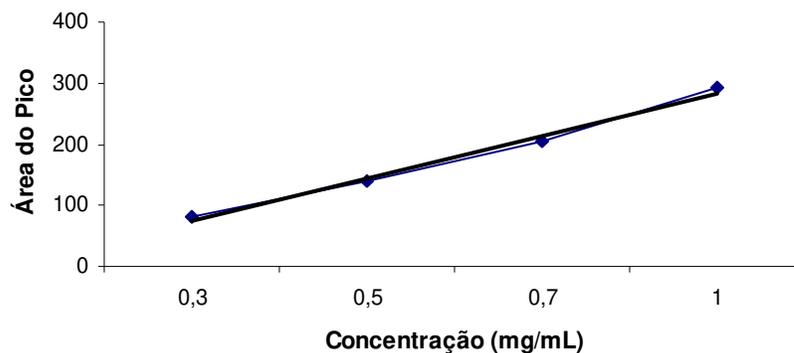


Figura 12. Curva de calibração do Octacosanol.
Equação: $\text{Área}_{\text{pico}} = 69,502 \times \text{Concentração}_{\text{C28}} + 5,1225 / R^2 = 0,9907$

A Figura 13 apresenta os 4 cromatogramas obtidos através da injeção das amostras com concentrações conhecidas do padrão interno e do álcool octacosanol. É importante observar que os picos do padrão interno se mantiveram semelhantes entre uma amostra e

outra, já que em todas elas a concentração era constante de 1mg/ml. Já o pico do octacosanol aumentou à medida que sua concentração passou de 0,3 para 1mg/ml. Todos os cromatogramas estão apresentados na mesma escala.

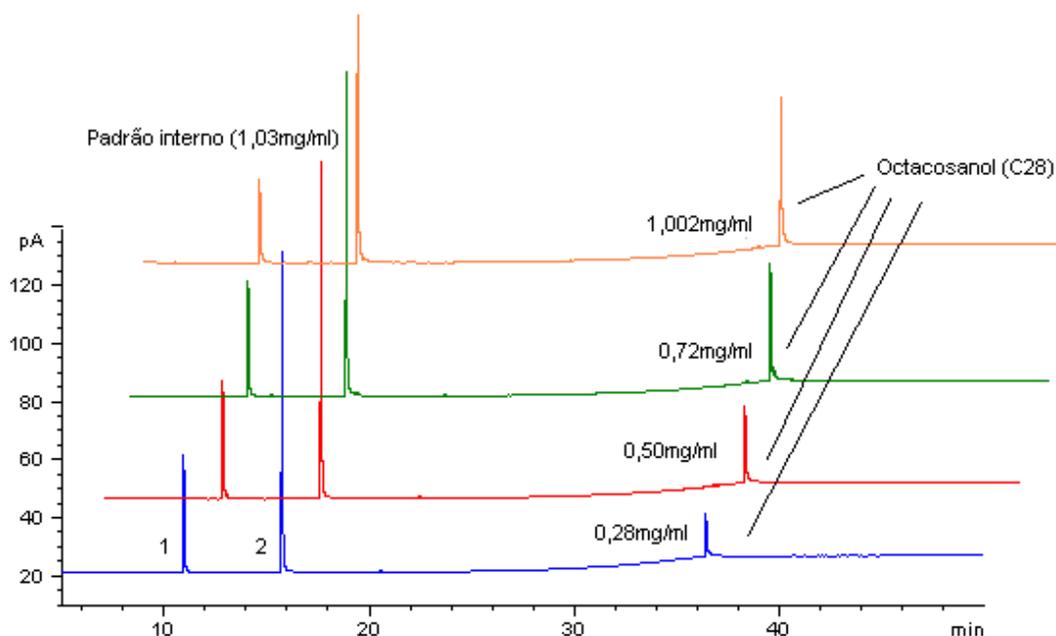


Figura 13. Cromatogramas para cálculo do fator de resposta ao detector. 1: Padrão interno Cetosteárilico 1: C16:0-OH; 2: C18:0-OH.

Para o cálculo do fator de resposta, dividiu-se o valor da soma das áreas dos picos do padrão interno pela área do pico do octacosanol quando ambos estavam na mesma concentração. É importante observar que para as amostras 1, 2 e 3, foi feita a transformação para que a área do pico representasse uma injeção de uma amostra de 1mg/ml.

Desta maneira, obteve-se um fator de resposta igual a 2, ou seja, nas mesmas concentrações, a resposta ao detector apresentada pelo padrão interno é duas vezes maior que a resposta dada pelo álcool graxo octacosanol.

Portanto, através da análise das áreas dos picos do padrão interno e dos álcoois graxos foi possível obter o teor de álcoois graxos total das amostras.

4.1.3.2 Teor de álcoois graxos da cera clarificada e purificada

A Figura 14 apresenta o cromatograma da cera clarificada e purificada com o padrão interno. Para obter a quantidade de álcoois totais na amostra analisada, a soma das áreas dos picos dos álcoois (representados pelos números 1 a 6) foi dividido pela área do padrão interno considerando-se o fator de resposta e o teor de pureza. Obteve-se $30,5 \pm 1,0\%$ de álcoois graxos totais.

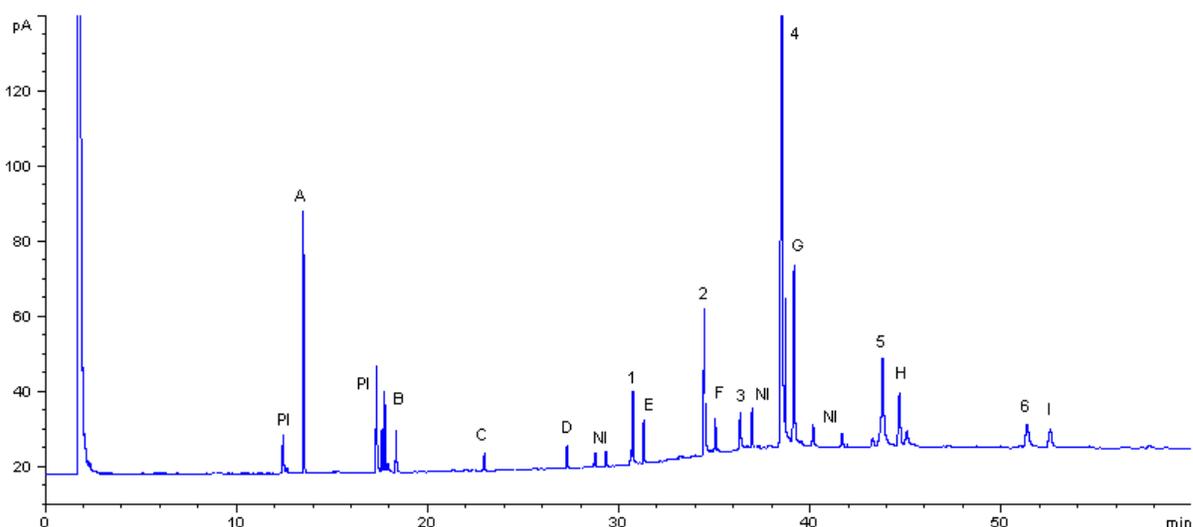


Figura 14. Cromatograma dos ácidos e álcoois graxos da cera purificada e clarificada. PI: Padrão interno; A: ácido palmítico (C16:0); B: ácido linolênico (C18:3); ácido oléico e linoléico (18:1 e C18:2) e ácido esteárico (C18:0); C: ácido icosanóico (C20:0); D: ácido docosanóico (C22:0); E: ácido tetracosanóico (24:0); F: ácido hexacosanóico (C26:0); G: ácido octacosanóico (C28:0); H: ácido triacontanóico (C30:0); I: ácido dotriacontanóico (C32:0); 1: tetracosanol (24C); 2: hexacosanol (C26); 3: heptacosanol (C27); 4: octacosanol (C28); 5: triacontanol (C30); 6: dotriacontanol; NI: não identificados.

Gandra (2006) encontrou teores de 22,9% de álcoois graxos na cera bruta de cana orgânica e 23,4% em cera bruta de cana mista. As amostras de ceras purificadas apresentaram uma concentração dos álcoois graxos totais, elevando o teor para 39,13%, para cera purificada de cana orgânica e 39,87%, para cera purificada de cana mista. A fração denominada de cera dura (resina) apresentou um teor de 19,01%, para cera dura de cana orgânica e 19,35 %, para cera dura de cana mista. Rozário (2006) encontrou teores de álcoois de 21,7% e 29,9% para as ceras bruta e purificada, respectivamente. Garcia & Garcia (1996) relataram teores de 16,4% de

álcoois graxos na cera bruta (extraída de torta de filtro de cana com hexano) e 42% em cera purificada (com etanol). Vieira (2003) encontrou teores de álcoois de 19,25% e 20,14% para as ceras brutas e 28,35% e 33,20% para as ceras purificadas, de cana orgânica e queimada, respectivamente.

O valor encontrado para o teor de álcoois graxos presente na cera purificada e clarificada estudada neste trabalho (30,5%) é bastante coerente com os encontrados na literatura citada acima. Como não se trabalhou com a cera bruta, o valor esperado para este índice seria maior que os valores reportados pela literatura para este tipo de cera, já que o processo de purificação acarreta na concentração dos álcoois graxos, principalmente do octacosanol.

4.2 Estudo detalhado das condições do processo de obtenção de policosanol

4.2.1 Saponificação

O primeiro processo aplicado na cera de cana-de-açúcar clarificada e purificada foi a etapa de saponificação para a formação de sais de ácidos graxos (sabões) e álcoois graxos. Para isso utilizou-se solução hidro-alcoólica (85% de etanol e 15% de água) de NaOH 2M, obedecendo a relação cera:solução de NaOH de 1:1 (p/v), temperatura de 80°C e tempo de reação de 15 minutos. Tais condições foram baseadas no estudo realizado por Rozário (2006).

Segundo Rozário (2006), quando álcali era dissolvido em quantidade mínima de água, não era possível manter o sistema em agitação, independentemente do tipo e concentração do álcali utilizado, tempo e temperatura. Nestas condições, a agitação da massa cessava com o aumento da viscosidade. Para tanto, o autor testou soluções hidro-alcoólicas na etapa de saponificação para solucionar o problema da agitação deficiente com soluções aquosas, mantendo-se as proporções cera: solução de álcali em 1:1.

A utilização de solventes hidro-alcoólicos na etapa de saponificação impede a formação de emulsão e permitem uma boa separação dos álcoois e ácidos. A agitação do meio é

importante, pois facilita a hidrólise dos ésteres, tornando a reação mais rápida (SUNDE & RICHEY, 1970).

A temperatura utilizada foi de 80°C (temperatura próxima do ponto de ebulição do etanol). Segundo Hass, Bloomer, Scott (2000), uma temperatura de saponificação de 100°C é a mais adequada, pois provoca uma reação mais rápida e requer menos álcali. Como não era possível realizar os ensaios com temperaturas acima de 80°C, pois demandaria a utilização de pressão, fixou-se a temperatura de processo em 80°C .

O rendimento do processo de saponificação e o teor de álcoois da cera clarificada purificada e saponificada foi de $108,00 \pm 0,05\%$ e $29,23 \pm 0,70\%$, respectivamente. O valor do teor de álcoois graxos está bastante próximo do teor de álcoois inicial da cera antes de ser saponificada (30,5%). Isto mostra que o processo de saponificação não modifica o teor de álcoois presente na amostra.

A Figura 15 apresenta o cromatograma da cera saponificada. Os picos não enumerados correspondem aos ácidos graxos que não foram quantificados.

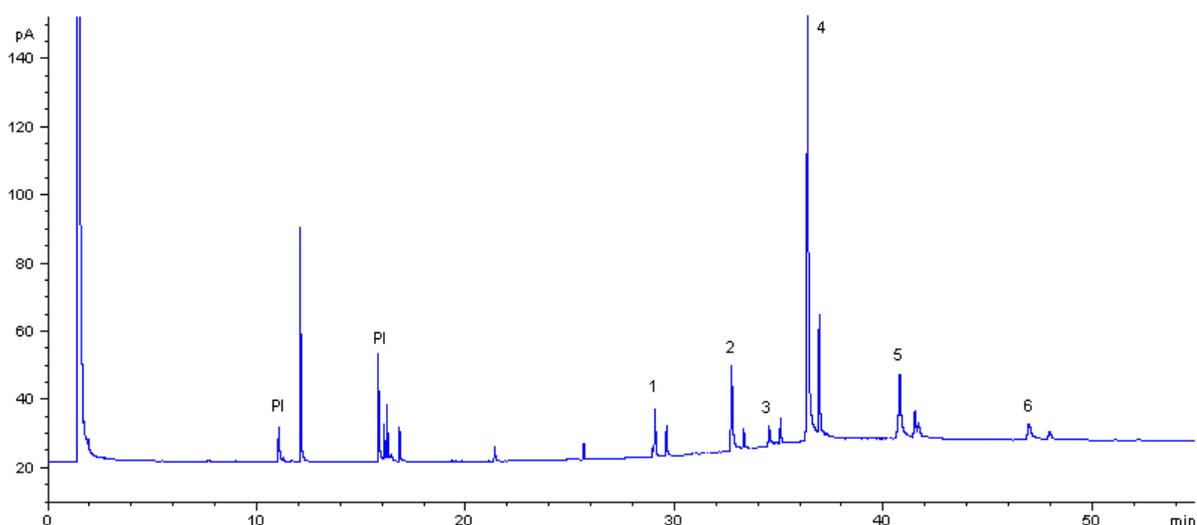


Figura 15. Cromatograma dos álcoois graxos da cera clarificada, purificada e saponificada. PI: padrão interno; 1: tetracosanol (C24); 2: hexacosanol (C26); 3: heptacosanol (C27); 4: octacosanol (C28); 5: triacontanol (C30); 6: dotriacontanol (C32).

A Figura 16 apresenta a cera antes de ser saponificada (cera clarificada e purificada) e após o processo de saponificação. É possível observar a diferença de coloração do material que sofreu saponificação. O material apresentado em (Figura 16a) é composto, principalmente, de ésteres graxos, e após a reação (Figura 16b), os ésteres foram saponificados para a formação de sabão e álcool graxo.

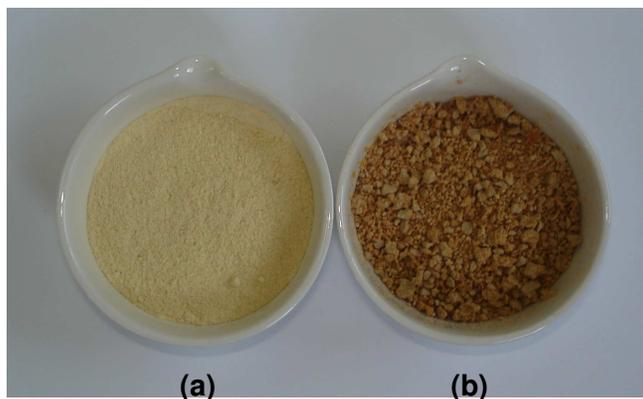


Figura 16. (a) Cera clarificada e purificada (b) Cera clarificada, purificada e saponificada.

4.2.2 Estudo do processo de extração do policosanol

4.2.2.1 Adaptação do processo proposto por Rozário (2006): Teste 1

Rozário (2006) obteve um produto com teor de álcoois de 45-50% e rendimento de 55-60%, o qual denominou de “policosanol 50” a partir de uma matéria-prima não clarificada contendo as frações cera purificada+óleo. O fluxograma do processo utilizado pelo autor está descrito na Figura 1.

Durante a aplicação do processo sob a cera clarificada e purificada, algumas etapas não tiveram o comportamento reportado. Na lavagem da cera saponificada com solução salina 10%, após o resfriamento não houve a formação de duas fases distintas. Desta maneira a filtração da solução formada (cera saponificada + solução salina 10%) não pode ser realizada de forma satisfatória. Foi observada uma emulsão formada entre a cera saponificada e a água.

De acordo com Marques (2004), a adição de cloreto de sódio provoca um aumento da força iônica do meio, diminuindo a solubilidade dos compostos não polares que precipitam e são separados por filtração. Pode-se supor que o cloreto de sódio presente na solução não foi suficiente para diminuir a solubilidade da solução, formando-se assim, uma emulsão.

O mesmo problema pode ser observado durante a realização da etapa de filtração da solução de álcoois, ou seja, não houve separação de duas fases que possibilitasse uma filtração eficiente.

Diante das dificuldades expostas, constatou-se que o processo descrito na literatura para obtenção de policosanol, não pode ser aplicada ao material estudado (cera clarificada e purificada). Isto pode ser explicado pela diferença de matéria-prima de inicial: Rozário (2006) obteve policosanol a partir de cera purificada, na qual foi retirada a fração cera dura, já este estudo utilizou cera denominada de clarificada e purificada (sem a fração óleo e com a fração cera dura).

4.2.2.2 Alterações do processo proposto por Rozário (2006)

4.2.2.2.1 Modificações da concentração e número de extrações da solução salina e aumento da relação cera saponificada:etanol na extração

Teste 2: Uso de solução salina 15%

Diante dos resultados obtidos com o primeiro teste, aumentou-se a concentração da solução salina de 10% para 15%, com o intuito de impedir a formação da emulsão que impossibilitava a sua filtração.

Foi observado, com a adição de solução salina 15%, a formação de duas fases bastante distintas. Decorrido o tempo do processo de mistura com a solução salina, seguido do resfriamento a temperatura ambiente e, em seguida, a 10°C por 1 hora em refrigerador, a filtração a vácuo desta solução ocorreu satisfatoriamente. Portanto, esta primeira dificuldade, apresentada na reprodução do processo, foi resolvida com sucesso.

A próxima etapa foi a adição de etanol ao resíduo obtido da filtração com a solução salina, seguido do aquecimento até atingir a temperatura de ebulição. Nesta fase, após o resfriamento adequado, não houve a formação de 2 fases distintas: álcoois graxos e solução de sabões, impossibilitando a filtração.

O rendimento do processo em relação à cera clarificada e purificada e o teor de álcoois graxos no produto obtido foram de $85\pm 3\%$ e $29,8\%\pm 1,86\%$, respectivamente. É importante observar que um alto rendimento do processo de separação dos álcoois mostra que não é possível realizar uma purificação eficiente. A condição ideal seria a obtenção de uma fração contendo 100% de álcoois, o que levaria a um rendimento de 30%, aproximadamente.

Os resultados indicam que o processo não foi eficiente, já que o teor de álcoois da matéria-prima inicial é de 30,5% e o resultado obtido para este processo foi de 29,8%. Além disso, o rendimento obtido (85%) mostra que o material não foi concentrado, ou seja, os sabões formados durante a etapa de saponificação não foram retirados.

Pode-se concluir, portanto, que a solução salina 15% é adequada para lavagem da mistura de álcoois e sabões, uma vez que há a formação de 2 fases que facilita a filtração; porém a etapa de separação com etanol adicionada ao resíduo não foi adequada para concentrar os álcoois graxos, tornando este processo inadequado para a obtenção de policosanol.

Teste 3: Aumento da relação cera saponificada:etanol para 1:20 (p/v)

Com o objetivo de solucionar o problema da fase de concentração dos álcoois, aumentou-se a relação massa resíduo (cera saponificada):volume de etanol de 1:10 para 1:20.

Comparando com a filtração da solução de álcoois do Teste 2, nota-se pouca diferença com relação a quantidade de solução filtrada, ou seja, mesmo aumentando-se a relação resíduo:etanol para 1:20 (p/v) o processo é pouco eficiente na remoção de sabões formados. Esta dificuldade está, provavelmente, relacionada com a quantidade de sabões que não haviam

sido eliminados com a etapa de lavagem com solução salina 15%, acarretando a formação de emulsão que impede a filtração.

O rendimento do processo em relação à cera clarificada e purificada e o teor de álcoois graxos no produto obtido foram de $85\pm 2,26\%$ e $35\pm 1,67\%$, respectivamente.

Os resultados mostram que mesmo com o aumento do volume de etanol anidro adicionado, a mistura de álcoois presente na cera não é concentrada. Este ensaio foi conduzido da mesma maneira que o Teste 2, porém empregando-se volume de etanol 2 vezes maior. O produto obtido no Teste 2, apresentou pureza de 29,8% e este ensaio de 35%. Comparando-se estes valores, conclui-se que é desnecessário o uso de maior quantidade de etanol. Além disso, o baixo teor de álcoois graxos obtido confirma a ineficiência do método aplicado na matéria-prima utilizada no estudo.

Teste 4: Extrações (4) com solução salina 15%

Este teste foi conduzido com o objetivo de se eliminar a dificuldade apresentada no teste anterior: a filtração deficiente da solução de álcoois. Partindo-se da premissa de que uma extração com solução salina não foi eficiente, repetiu-se o processo de lavagem com solução salina 15% quatro vezes, obedecendo à relação de cera saponificada:solução salina de 1:7,5.

O aumento da quantidade de extrações com solução de cloreto de sódio de 1 para 4 vezes, visou a uma maior eliminação dos sais de ácidos graxos (sabões) formados na etapa de saponificação, para obtenção de um material que pudesse ser filtrado com maior facilidade na etapa seguinte.

O rendimento do processo em relação à cera clarificada e purificada foi de $70\pm 3,13\%$ e o teor de álcoois graxos no produto obtido de $40\pm 2,23\%$.

O valor encontrado para o teor de álcoois graxos revela a ineficiência do processo empregado, pois o teor de álcoois inicial de 30,5% da cera purificada e clarificada elevou-se apenas 9,5%. Ou seja, houve concentração dos álcoois presentes, porém não significativa,

indicando ainda a presença de muitas impurezas.

Observou-se que mesmo após este processo, a filtração da solução de álcoois não ocorreu de forma eficiente, ou seja, a mesma dificuldade encontrada no teste anterior foi reproduzida neste ensaio, confirmando a ineficiência deste método.

4.2.2.2.2 Substituição do processo de extração com álcool a quente para álcool a frio

Teste 5: Extração com solução salina e 2 extrações com etanol anidro a frio na relação 1:10 (p/v)

A partir deste teste preliminar, abandonou-se a etapa de separação de impurezas adotado por Rozário (2006), a qual utilizava etanol a quente. O autor constatou a necessidade de retirada da resina por facilidade operacional. Desta maneira, em seu estudo, a autor empregou a etapa de separação de impurezas (cera dura) com o objetivo de se eliminar a cera dura residual, já que a fração de interesse naquele trabalho era apenas a cera denominada de cera purificada, composta das frações cera purificada e óleo.

Porém, neste estudo, a matéria-prima é composta pelas frações “cera purificada” e “cera dura”, não interessando a separação destas, já que ambos contêm altos teores de álcoois. A cera dura, segundo Gandra (2006), apresenta teor de álcoois de 19,01% (proveniente de cana orgânica), quantidade que não deve ser descartada.

Neste ensaio, após a lavagem com solução salina 15%, testou-se a concentração de álcoois com etanol a 10°C, sob agitação constante por 1 hora. O fluxograma do processo, bem como sua descrição, estão apresentados no item 3.3.2.2.2. A Tabela 18 mostra os resultados obtidos (rendimento e teor de álcoois) após a primeira e segunda extração com etanol.

Tabela 18. Rendimento (%) e teor de álcoois (%) dos produtos obtidos no Teste 5 (Extração com solução salina e 2 extrações com etanol a frio na relação 1:10).

Número de extrações	Rendimento (%)	Desvio padrão	Teor de álcoois (%)	Desvio padrão
1	85,4	1,23	30,7	2,45
2	78,6	0,99	32,4	2,78

Após a primeira lavagem com etanol frio, o teor de álcoois graxos obtido foi de 30,7%; e após a repetição desta etapa, o teor de álcoois passou para 32,4%. Estes resultados mostram que uma ou duas lavagens com etanol a 10°C não influenciam na concentração dos álcoois, já que o teor praticamente não se alterou (teor de álcoois inicial é de 30,5%).

Estes resultados podem estar relacionados, provavelmente pela a quantidade de sabões que não foram eliminados com a etapa de lavagem com solução salina 15%, levando à necessidade de aumentar número de extrações com solução salina.

Teste 6: Extrações (3) com solução salina 15% e 1 extração com etanol a frio na relação 1:10 (p/v)

O Teste 6 foi conduzido com o objetivo de se eliminar a maior quantidade de sais de ácidos graxos formados na saponificação, para resultar em um produto adequado para a etapa de extração do policosanol presente no material.

A Tabela 19 apresenta os resultados obtidos com o emprego do processo proposto, após a etapa de extração com solução salina e no produto final. Após a extração com solução de cloreto de sódio, o produto obtido apresentou pureza de 38% em álcoois graxos e o rendimento foi de 79,8% em relação à cera clarificada e purificada. Após a extração com etanol a 10°C, o produto apresentou teor de 36% e rendimento de 71% em relação à cera clarificada e purificada. Desta maneira, a etapa de purificação com etanol a frio torna-se desnecessária, já que o teor de álcoois graxos praticamente não se alterou.

Tabela 19. Rendimento (%) e teor de álcoois (%) dos produtos obtidos no Teste 6 (Extrações (3) com solução salina e 1 extração com etanol a frio na relação 1:10).

	Rendimento (%)	Desvio padrão	Teor de álcoois (%)	Desvio padrão
(a)	79,8	1,61	38	2,08
(b)	71,0	1,28	36	1,99

(a) após 3 extrações com solução salina 15%

(b) produto final (após extração com etanol anidro a 10°C)

Diante destes resultados e conhecendo-se o teor de álcoois inicial (cera clarificada e purificada), pode-se concluir que este ensaio também não foi adequado para a purificação da mistura de álcoois graxos presente na cera.

Teste 7: Extração com solução salina 15% e 2 extrações com etanol a frio na relação 1:20 (p/v)

O Teste 7 foi conduzido com o objetivo de se avaliar o real efeito do emprego de etanol anidro a frio sobre o resíduo (cera saponificada e lavada com solução salina). Para tanto, elevou-se a relação de massa resíduo:volume etanol de 1:10 para 1:20 (vide item 3.3.2.2.2.2). A Tabela 20 apresenta os resultados de rendimento (%) e teor de álcoois graxos (%) obtidos após a realização deste teste.

Tabela 20. Rendimento (%) e teor de álcoois (%) dos produtos obtidos no Teste 7 (Extração com solução salina 15% e 2 extrações com etanol a frio na relação 1:20)

Número de extrações	Rendimento (%)	Desvio padrão	Teor de álcoois (%)	Desvio padrão
1	77,0	1,29	33,4	0,96
2	71,4	1,58	34,6	1,79

Após a primeira extração com etanol frio, o teor de álcoois graxos obtido foi de 33,4%; e após a repetição desta etapa, o teor de álcoois passou para 34,6%. Assim como no teste 5, a repetição da extração com etanol frio foi ineficiente, uma vez que os teores de álcoois graxos estão bastante próximos. Além disso, o teor de 33,4% mostra que o aumento da quantidade de etanol não é suficiente para concentrar o policosanol presente na cera saponificada, já que o teor de álcoois inicial é de 30,5%. O mesmo pode ser constatado se compararmos os

resultados de teores de álcoois obtidos no Teste 5 (Tabela 18), de 30,7% (após uma lavagem com solução salina) e 32,4% (no produto final).

Teste 8: Extrações (2) com solução salina: etanol (1:1) e extração com etanol a frio na relação 1:10 (p/v)

Diante dos resultados encontrados no testes 5, 6 e 7, este ensaio estudou o efeito da extração com uma solução composta de etanol anidro e solução de cloreto de sódio 15%, na tentativa de se obter um maior teor de álcoois graxos no produto final. Para isso utilizou-se uma solução composta de solução salina:etanol (1:1), objetivando a diminuição do conteúdo de água na extração.

O produto final obtido com este processo apresentou teor de álcoois de $37,26\% \pm 1,25\%$ e rendimento de $54 \pm 3,48\%$ em relação à cera purificada e clarificada. Apesar do menor rendimento, não se verificou alto teor de álcoois, já que ocorreram significativas perdas de produto com o processo de centrifugação. Da mesma maneira que o teste anterior, esta metodologia não deve ser aplicada com o objetivo de se conseguir a separação dos álcoois graxos presentes na cera saponificada.

Comparando-se todos os resultados obtidos com a realização dos testes 5, 6, 7 e 8, pode-se concluir que a utilização da purificação com etanol anidro à frio, não foi eficiente para separar os álcoois graxos dos sais de ácidos graxos formados durante a saponificação. A Tabela 21 apresenta, de forma resumida os resultados obtidos.

Tabela 21. Tabela comparativa do teor de álcoois graxos obtidos nos testes que envolviam o uso de extração com etanol a frio.

Teste	5	6	7	8
n° extrações com solução salina 15%	1	3	1	2 (+ etanol)
n° de extrações com etanol à 10°C/ relação resíduo: etanol p/v	2 /1:10	1/1:10	2/ 1:20	1/1:10
Teor de álcoois (%)	30,7 (1° extração) 32,4 (2° extração)	38 (após extração com sol. salina) 36 (produto final)	33,4 (1° extração) 34,6 (2° extração)	37,26

Para a realização destes testes, o processo de filtração e/ou centrifugação foi bastante complicado. Isto pode ser devido a vários fatores: formação de emulsão provocada pela água presente, ineficiência de separação dos álcoois graxos e sabões em etanol a frio e a elevada quantidade de sabões na etapa de extração com etanol frio. Este último tópico foi levado em consideração para a realização dos próximos ensaios (Testes 9 e 10), ou seja, objetivou-se eliminar a maior quantidade de sabões presentes na cera saponificada para que o material fosse então lavado com etanol frio para a retirada do sabão residual.

4.2.2.2.3 Substituição da extração com solução salina

Teste 9: Solução água: etanol (1:1)

A próxima alternativa testada com o objetivo de se retirar a maior quantidade de sais de ácidos graxos (sabões) presentes na cera clarificada, purificada e saponificada foi o emprego de uma extração com uma solução 1:1 (v/v) de água e etanol anidro, obedecendo à relação cera:solução de 1:7,5 (p/v).

Foi observado que com a adição da solução, formada por água e etanol anidro, à cera saponificada, uma emulsão foi formada. Desta maneira, ao invés da filtração a vácuo, a centrifugação foi uma maneira de se separar as duas fases esperadas: sabões dissolvidos na solução e álcoois graxos insolúveis.

No processo foi obtido um rendimento de $42 \pm 5,16\%$ em relação à cera clarificada e purificada e teor de álcoois graxos foi de $34,9 \pm 1,25\%$. O rendimento apresentado pode ser explicado pelas perdas durante o processo e não pela concentração dos álcoois graxos. A emulsão impediu a separação dos álcoois graxos dos sabões formados.

Teste 10: Água quente

Para a separação da mistura de álcoois da cera saponificada, a adição de água na proporção de 1:7,5 de cera saponificada:água quente, foi testada.

À medida que eram realizadas as extrações, a separação das duas fases ficava evidente. Isto pode ser explicado pela retirada gradual dos sais de ácidos graxos (sabões) que eram separados a cada centrifugação. Porém, a emulsão formada ainda era um limitante deste processo.

Após as três lavagens com água quente, o produto obtido apresentou teor de álcoois de 39,52%, porém um baixo rendimento (22%) em relação à cera purificada e clarificada. Mesmo assim, optou-se por extrair este material com etanol a 10°C, sob agitação constante por 1 hora. O produto resultante deste processo apresentou pureza de 43,5% e rendimento de 16% em relação à cera purificada e clarificada. Os dados estão apresentados na Tabela 22.

Tabela 22. Rendimento (%) e teor de álcoois (%) dos produtos obtidos no Teste 10 (extração com água quente)

	Rendimento (%)	Desvio padrão	Teor de álcoois (%)	Desvio padrão
(a)	22	2,86	39,52	1,78
(b)	16	2,57	43,5	1,29

(a) Após a extração com água quente

(b) Após a extração com etanol anidro a 10°C

Analisando-se todos os métodos propostos até este momento, este ensaio foi o que melhor conseguiu separar a mistura de álcoois graxos da cera saponificada, porém com baixo rendimento.

4.2.2.2.4 Eliminação da etapa de extração com solução salina/etanol/água, utilizando apenas extração com etanol

Teste 11: Extração da cera saponificada com etanol a frio

Após a saponificação da cera, realizou-se a extração direta com etanol a 10°C. O rendimento do processo e teor de álcoois graxos obtidos foram de: 76,1±3,01% e 36,4±2,09%,

respectivamente.

Este método não concentrou o policosanol presente na cera clarificada e purificada, já que o teor de álcool inicial é de 30,5%.

Através dos resultados obtidos com este ensaio, pode-se concluir que a etapa de extração com solução salina 15% era desnecessária, já que nenhum teste apresentou aumento considerável de pureza após sua realização. Ou seja, com o emprego ou não de solução salina/etanol/água, os teores de álcoois graxos dos produtos obtidos se mantiveram em torno de 30 a 40%.

Teste 12: Extração da cera saponificada com etanol a quente

Neste teste utilizou-se etanol anidro a 73°C para separação da mistura de álcoois presente na cera saponificada. Após a saponificação, etanol anidro foi adicionado à cera de acordo com a relação de 1:10 (p/v), e a mistura foi mantida a 73°C por 1 hora, e posteriormente, as fases foram separadas ainda quentes. Este procedimento foi repetido até que a cor amarelada da parte solúvel em etanol ficasse bem clara, indício de que a maioria dos álcoois graxos havia sido extraída. Para tanto, realizou-se este processo cinco vezes.

Após a secagem dos dois materiais (fração solúvel e fração insolúvel em etanol), era nítida a diferença física das duas frações. O teor de álcoois graxos da fração solúvel em etanol foi de $55 \pm 1,25\%$ e rendimento de $54 \pm 2,36\%$. A fração insolúvel apresentou teor de álcoois de $0,7 \pm 1,25\%$.

As Figuras 17 e 18 apresentam os cromatogramas das duas frações analisadas. Através da análise dos picos do cromatograma da Figura 17 é possível observar que a amostra contendo a parte solúvel em etanol apresenta os 6 picos dos álcoois graxos (tetracosanol, hexacosanol, heptacosanol, octacosanol, triacontanol e dotriacontanol), além dos picos dos ácidos graxos. Já na Figura 18, apenas um pico de álcool é observado, o do octacosanol C28. Os outros picos são dos ácidos graxos (ácido palmítico, ácido linolênico, ácido oléico, ácido

linoléico, ácido esteárico, ácido icosanóico, ácido docosanóico, ácido tetracosanóico, ácido hexacosanóico, ácido octacosanóico, ácido triacontanóico e ácido dotriacontanóico).

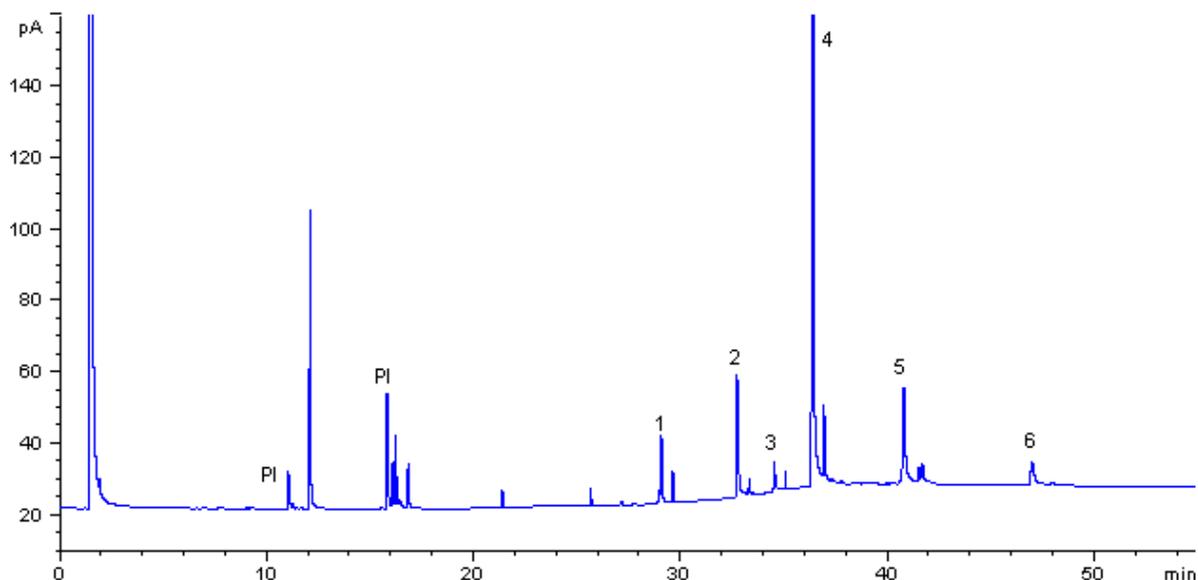


Figura 17. Cromatograma da fração solúvel em etanol (álcoois graxos) do teste 12. PI: padrão interno; 1: tetracosanol (24C); 2: hexacosanol (C26); 3: heptacosanol (C27); 4: octacosanol (C28); 5: triacontanol (C30); 6: dotriacontanol (C32).

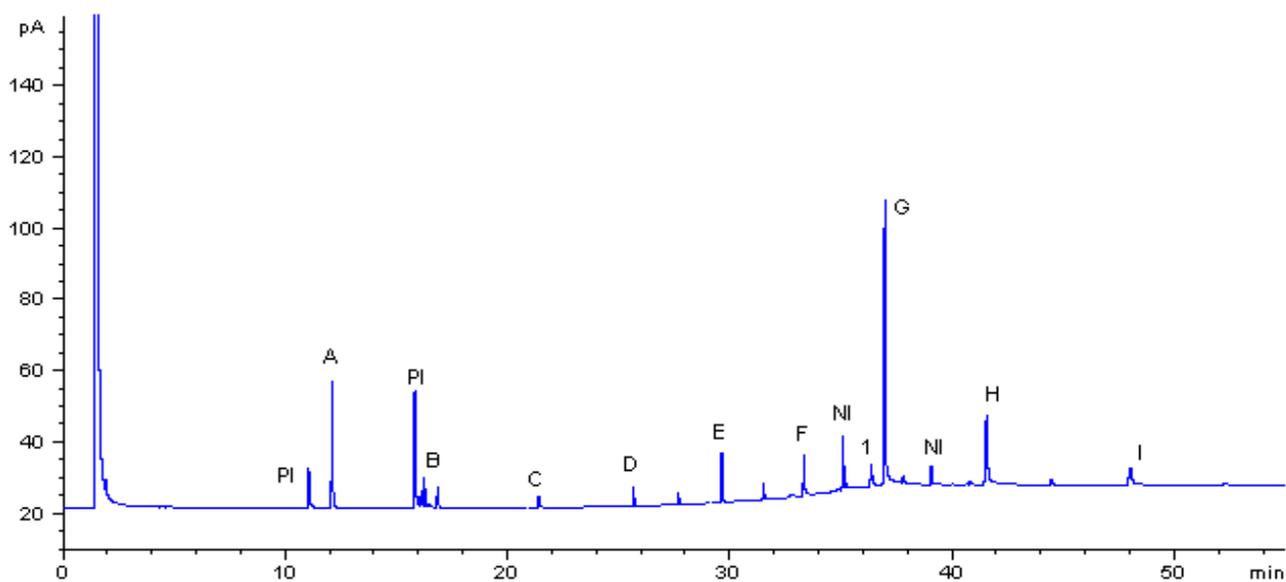


Figura 18. Cromatograma da fração insolúvel em etanol (ácidos graxos) do teste 12. PI: padrão interno; 1: octacosanol (C28); A: ácido palmítico (C16:0); B: ácido linolênico (C18:3); ácido oléico e linoléico (18:1 e C18:2) e ácido esteárico (C18:0); C: ácido icosanóico (C20:0); D: ácido docosanóico (C22:0); E: ácido tetracosanóico (24:0); F: ácido hexacosanóico (C26:0); G: ácido octacosanóico (C28:0); H: ácido triacontanóico (C30:0); I: ácido dotriacontanóico (C32:0); NI: não identificados.

Através da análise dos cromatogramas e dos resultados de pureza apresentados pelas 2 frações, pode-se concluir que os álcoois graxos são solúveis em etanol anidro à 73°C, já os sais de ácidos graxos são insolúveis neste solvente.

Os resultados obtidos indicam que o melhor processo para obtenção da mistura de álcoois denominada de “policosanol 50” é a extração direta com etanol a quente da cera saponificada.

4.2.3 Processo simplificado de extração e purificação do policosanol

4.2.3.1 Determinação das condições de operação do processo selecionado para obtenção de “policosanol 50”.

Estudou-se a quantidade mínima necessária de etanol para maximizar o teor de álcoois, uma vez que 5 extrações são inviáveis economicamente em escala industrial. Para tanto, foram estudadas diversas relações entre massa cera saponificada:volume de etanol em 1 ou 2 extrações

A Tabela 23 apresenta os resultados dos 10 ensaios realizados. As relações de cera saponificada: etanol (p/v) testadas foram de 1:5, 1:7,5, 1:10, 1:15 e 1:20 em 1 e 2 extrações. A fração solúvel em etanol é representada em sua maior parte pelo policosanol, enquanto que a fração solúvel em etanol é formada em sua maior parte pelos sais de ácidos graxos, os sabões.

Tabela 23. Teor de álcoois (%) dos ensaios 1 a 10 das frações solúvel (policosanól) e insolúvel (sais de ácidos graxos) em etanol.

Ensaio	Relação cera saponificada: etanol (p/v)	Número de extrações	Teor de álcoois (%)	
			Fração solúvel em etanol	Fração insolúvel em etanol
1	1:5	1	52	21
2	1:5	2	49	4
3	1:7,5	1	52	16
4	1:7,5	2	44	6
5	1:10	1	51	13
6	1:10	2	47	8
7	1:15	1	49	5
8	1:15	2	46	3
9	1:20	1	51	6
10	1:20	2	49	2

O maior teor de álcoois graxos da parte solúvel em etanol foi obtido com os ensaios 1 e 3. Já o menor teor de álcoois graxos da parte insolúvel foi obtido com o ensaio 10.

Nota-se que quanto menor a quantidade de etanol adicionada em menor número de vezes, mais desejável é o processo. Portanto o **ensaio 1**, no qual utilizou-se relação cera saponificada:etanol de 1:5 em 1 extração, foi o selecionado, já que neste obteve-se teor de pureza em álcoois de 52% e 21% para a parte solúvel e insolúvel, respectivamente.

Para testar a repetibilidade do processo escolhido reproduziu-se o mesmo mais duas vezes, obtendo-se um teor de álcoois de $55\pm 3\%$ (Policosanól) e $21\pm 1\%$ (Sais de ácidos graxos). O rendimento obtido foi de $38\pm 1,98\%$ em relação à cera purificada e clarificada (utilizada na etapa de saponificação). Rozário (2006), em seu estudo, apresentou rendimento de 55-60% em relação à cera purificada e teor de álcoois de 45-55%.

4.2.3.2 Estudo do processo de obtenção de “policosanól 90”

O “policosanól 50” foi purificado com acetona, seguindo as relações de massa policosanól 50: volume acetona de 1:10, 1:15, 1:20 e 1:30. Os teores de álcoois graxos dos

produtos obtidos após o processo descrito no item 3.3.2.5 estão apresentados na Tabela 24.

Tabela 24. Teor de álcoois graxos nas frações obtidas após extrações do policosanol 50 com acetona.

Ensaio	1	2	3	4
Relação policosanol 50:acetona (p/v)	1:30	1:20	1:15	1:10
Teor de álcoois Fração Solúvel (%) [*]	98	97	96	96
Teor de álcoois Fração Insolúvel (%) ^{**}	10	11	9	10
Rendimento ^{***} (%)	23,4	21,9	21,5	17,4

* Fração denominada de “policosanol 90”

** Fração composta de sais de ácidos graxos

***em relação à cera clarificada e purificada utilizada na etapa de saponificação

A Tabela 24 apresenta os ensaios realizados com acetona para a purificação do “policosanol 50”. A fração solúvel em acetona é o produto filtrado a quente, ou seja, o policosanol com alto teor de pureza. A fração insolúvel em acetona são os sais de ácidos graxos (sabões) que constituíam o “policosanol 50”.

O ensaio que apresentou maior rendimento em relação à cera purificada e clarificada (utilizada inicialmente na etapa de saponificação) foi o que utilizou a relação policosanol 50: acetona de 1:30 (p/v) (23,4%). O ensaio 4 (1:10) foi o que obteve o menor rendimento em relação à cera inicial de 17,4%. Os ensaios 2 e 3 apresentaram rendimentos bastante semelhantes de 21,9 e 21,5% respectivamente. Cabe ressaltar que com relação os teores de álcoois graxos, todos os ensaios apresentaram valores bastante elevados, em torno de 96%.

Desta maneira, o **ensaio 4** (1:10) pode ser considerado o experimento mais adequado para obtenção de “policosanol 90”, já que utiliza a menor da quantidade de acetona.

Rozário (2006) obteve rendimento de 25,7% em relação à cera purificada (utilizada na etapa de saponificação) e teor de álcoois de 92,3%, utilizando relação de “policosanol 50”:acetona de 1:30 (p/v).

Na Tabela 25 estão apresentadas a composição em álcoois do “policosanol 90” e do Lestanol, bem como sua especificação fornecida pelo fabricante.

Tabela 25. Composição em álcoois graxos do “policosanol 90”, obtido após purificação com acetona e a composição e especificação do Lestanol utilizado como padrão.

Álcool graxo N° de carbono	% relativa*				Especificação Lestanol**
	“Policosanol 90”	Desvio padrão	Lestanol	Desvio padrão	
24	5	0,22	5,1	0,23	1-10
26	12,7	0,18	8,7	0,16	2-15
27	3,2	0,23	0,6	0,01	0-0,5
28	61,8	1,49	69,6	1,52	55-70
29	-	-	-	-	0-10
30	12,8	0,40	13,5	0,40	5-20
32	4,5	0,13	2,6	0,10	0,1-10
34	-	-	-	-	0,1-10

*Média de 3 repetições

** Fonte: Rozário (2006)

Através da análise dos dados apresentados na Tabela 25, observa-se que o produto obtido se assemelha ao Lestanol (padrão) em relação à composição em álcoois graxos. Os álcoois nonacosanol (C29) e tetratriacontanol (C34) não foram detectados neste estudo.

O produto obtido neste estudo também se assemelha ao obtido por Rosário (2006). O autor, após purificação com acetona, obteve um produto denominado de “policosanol 90”, o qual apresentou a seguinte composição: $2,5 \pm 0,44\%$ de tetracosanol; $13,7 \pm 1,64\%$ de hexacosanol; $1,3 \pm 0,14\%$ de heptacosanol; $65,2 \pm 1,57\%$ de octacosanol; $0,5 \pm 0,01\%$ de nonacosanol; $9,9 \pm 0,38\%$ de triacontanol e $3,1 \pm 0,10\%$ de dotriacontanol.

As Figuras 19 e 20 apresentam os cromatogramas com o perfil dos álcoois graxos do produto denominado de “policosanol 90” e do Lestanol, respectivamente.

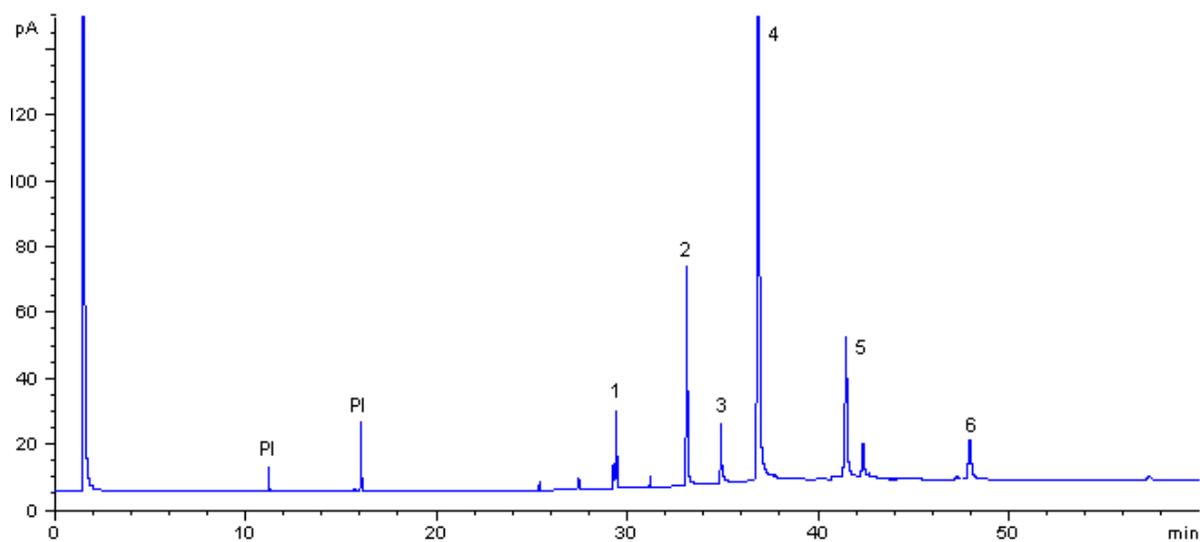


Figura 19. Cromatograma dos álcoois graxos do “policosanol 90”. PI: padrão interno; 1: tetracosanol (24C); 2: hexacosanol (C26); 3: heptacosanol (C27); 4: octacosanol (C28); 5: triacontanol (C30); 6: dotriacontanol (C32).

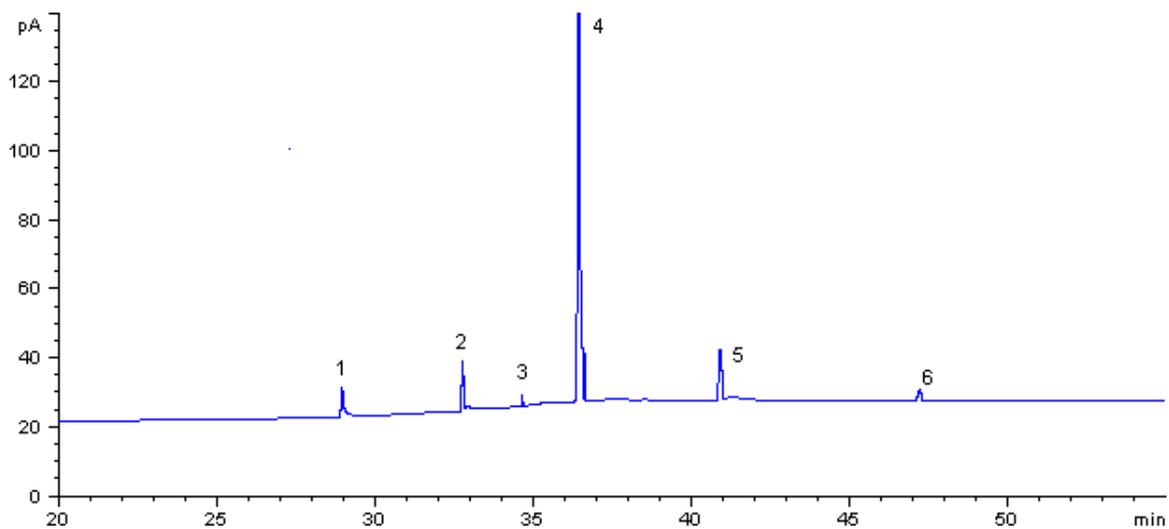


Figura 20. Cromatograma dos álcoois graxos do Lestanol. 1: tetracosanol (24C); 2: hexacosanol (C26); 3: heptacosanol (C27); 4: octacosanol (C28); 5: triacontanol (C30); 6: dotriacontanol (C32).

4.2.4 Escalonamento pré-piloto

As condições para a reação de saponificação da cera clarificada e purificada de cana-de-açúcar em escala pré-piloto foram as mesmas utilizadas nos ensaios de laboratório: relação cera:solução hidro-alcoólica de NaOH em 1:1 (p/v); concentração da solução hidro-alcoólica de NaOH de 2 M; temperatura de 80°C e tempo de 15 minutos.

Para a etapa seguinte de separação de álcoois graxos, os ensaios laboratoriais, utilizando-se etanol anidro a 73°C/1hora, relação cera saponificada:etanol de 1:5 (p/v) em 1 extração, permitiram a obtenção de “policosanol 50” e rendimento de 38% em relação à cera clarificada e purificada, conforme apresentado anteriormente. Em planta piloto, foram realizadas 3 purificações com etanol a 70°C, de acordo com as seguintes relações de cera saponificada:etanol (p/v): 1:3; 1:2 e 1:2, totalizando uma quantidade em volume de etanol 7 vezes superior em relação à massa de cera (1:7).

Esta modificação com relação aos experimentos de laboratórios foi necessária para adequar aos equipamentos utilizados. O teor de álcoois obtido foi de 46,31%, e rendimento de 52,48%, valores próximos ao obtido por Rozário (2006) de 45-55% (teor de álcoois graxos) e de 55-60% (rendimento) em relação à cera purificada.

Para a obtenção de “policosanol 90” em escala laboratorial, utilizaram-se as seguintes condições: relação “policosanol 50”:acetona de 1:10 (p/v) sob refluxo por 30 min, seguido da filtração à quente. Para a adaptação à escala piloto, foram feitas 2 purificações com acetona obedecendo a relação de 1:5 (“policosanol 50”:acetona p/v).

Os resultados provenientes deste produto obtido da purificação com acetona em planta piloto foram: teor de álcoois de 91,74% e rendimento de 15,08%. Rozário (2006) obteve rendimento superior de 25,7% em relação à cera purificada (utilizada na etapa de saponificação) e teor de álcoois de 92,3%, utilizando relação de policosanol 50: acetona de 1:30 (p/v). A Tabela 26 apresenta os resultados obtidos para os produtos denominados de

“policosanol 50” e “policosanol 90”.

Tabela 26. Rendimento (%) e teor de álcoois (%) dos produtos obtidos após o teste pré-piloto.

Produto	Rendimento (%)	Teor de álcoois (%) [*]
policosanol 50 ^{**}	52,48	46,31
policosanol 90 ^{***}	15,08	91,74

^{*}Obtido em relação à massa inicial de cera clarificada e purificada

^{**} Fração solúvel em etanol quente

^{***}Fração solúvel em acetona quente

A Tabela 27 apresenta a composição em álcoois graxos dos seguintes produtos: “policosanol 90” obtido após purificação com acetona em planta piloto e em laboratório, “policosanol 90” obtido por Rozário (2006) e a composição e especificação do Lestanol.

Tabela 27. Composição em álcoois graxos (%) do policosanol obtido através da purificação com acetona e a composição e especificação do Lestanol utilizado como padrão.

Álcool graxo Nº de carbono	“policosanol 90” (1)	“policosanol 90” (2)	“policosanol 90” (3)	Lestanol (Especificação) [*]
24	7,82	5	2,5	5,1 (1-10)
26	9,86	12,7	13,7	8,7(2-15)
27	0,26	3,2	1,3	0,6(0-0,5)
28	65,16	61,8	65,2	69,6(55-70)
29	-	-	0,5	- (0-10)
30	7,19	12,8	9,9	13,5(5-20)
32	1,32	4,5	3,1	2,6(0,1-10)
34	-	-	-	-(0,1-10)

(1) Obtido após purificação com acetona em planta piloto.

(2) Obtido após purificação com acetona em laboratório.

(3) Fonte: Rozário (2006)

^{*} Fonte: Rozário (2006)

Os resultados observados mostram que o produto obtido em escala piloto é bastante semelhante ao padrão Lestanol, ao “policosanol 90” obtido em escala laboratorial e ao obtido por Rozário (2006) na composição dos principais álcoois graxos presentes.

5. CONCLUSÕES

→ A matéria-prima, cera de cana-de-açúcar clarificada e purificada, apresentou índices de qualidade e de identidade condizentes com dados reportados na literatura. Além disso, ela mostrou-se apropriada para a obtenção de policosanol, já que apresentou alto teor de álcoois graxos.

→ Foi necessário alterar a metodologia proposta por Rozário (2006) para que se obtivesse resultado satisfatório na obtenção de policosanol. A alteração do processo pode ser explicada pela diferença de matéria-prima utilizada pelo autor e neste estudo.

→ Através do estudo detalhado para obtenção de policosanol, foi possível desenvolver um processo simplificado envolvendo 2 etapas: saponificação e extração com etanol a quente, resultando em um produto intermediário com 50-55% de álcoois graxos e rendimento de 38% (“policosanol 50”) e um produto final com 90-96% de álcoois e rendimento de 17,4% (“policosanol 90”).

→ As condições para a reação de saponificação da cera de cana-de-açúcar clarificada e purificada foram: relação cera:solução hidro-alcoólica de NaOH em 1:1 (p/v); concentração da solução hidro-alcoólica de NaOH de 2 M; temperatura de 80°C e tempo de 15 minutos.

→ As condições definidas do processo de extração com etanol a quente para obtenção do “policosanol 50” foram: etanol anidro a 73°C/1 hora; relação cera saponificada:etanol de 1:5 (p/v) em 1 extração.

→ A purificação do “policosanol 50”, através de extração com acetona permitiu a obtenção do “policosanol 90”. As condições deste processo foram: relação “policosanol 50”: acetona de 1:10 (p/v) sob refluxo por 30min, seguido da filtração à quente.

→ Os processos desenvolvidos em laboratório foram reproduzidos em escala pré-piloto com sucesso, com pequenas adaptações aos equipamentos utilizados.

→ Os produtos “policosanol 50 e 90” apresentaram composição em álcoois graxos similares aos reportados na literatura e ao produto comercial Lestanol (Garuda International Inc.). Desta maneira, conclui-se que o processo aplicado para a sua obtenção foi eficiente.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMENAS, J. O negócio é fazer cera. **Química e Derivados**, São Paulo, n.192, p. 24-29, ago, 1982.
- AGUILERA, R. C. & RUIZ, R. L. Torta. In: ICIDCA (Instituto Cubano de Pesquisa dos Derivados de Cana de Açúcar). **Manual dos derivados de cana-de-açúcar**. Brasília: ABIPTI, 1999. 474p. p.57-61.
- ALEMÁN, C. L.; MÁ S, R.; NOA, P. M.; RODEIRO, G. I.; ERNANDEZ, O. C.; CAPOTE, A. Carcinogenicity of policosanol in Sprague Dawley rats: a 24month study. **Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis**, v.14, n.5, p. 239-249, 1994b.
- ALEMÁN, C. L.; MÁ S, R.; HERNÁNDEZ, C.; RODEIRO, I.; CEREJIDO, E.; NOA, M.; CAPOTE, A.; MENÉNDEZ, R.; AMOR, A.; FRAGA, V.; SOTOLONGO, V.; JIMÉNEZ, S. A 12-month study of policosanol oral toxicity in Sprague Dawley rats. **Toxicology Letters**, v.70, n.1, p.77-87, Jan., 1994a.
- ALEMÁN, C. L.; PUIG, M. N.; ELIAS, E. C.; ORTEGA, C. H.; GUERRA, I. R.; FERREIRO, R. M.; BRIÑIS, F. Carcinogenicity of policosanol in mice: an 18-month study. **Food and Chemical Toxicology**, v.33, n. 7, p.573-578, July, 1995.
- ANEIROS, E.; MÁ S, R.; CALDERON, B.; ILLNAIT, J.; FERNÁNDEZ, L.; CASTAÑO, G.; FERNÁNDEZ, J. C. Effect of policosanol in lowering cholesterol levels in patients with type II hypercholesterolaemia. **Current Therapeutic Research**, v. 56,. n. 2, p. 176-182, Feb.,1995.
- AOCS – AMERICAN OIL CHEMISTS´ SOCIETY. **Official Methods and Recommend Practices**. 5ed. Champaign: AOCS Press, 2004.
- ARRUZAZABALA, M. L.; CARBAJAL, D.; MÁ S, R.; GARCIA, M.; FRAGA, V. Effects of policosanol on platelet aggregation in rats. **Thrombosis Research**, v.69, n.3, p. 321-327, Feb, 1993b.
- ARRUZAZABALA, M. L.; MOLINA, V.; CARBAJAL, D.; VALDÉS, S.; MÁ S, R. Effect of policosanol on cerebral ischaemia in Mongolian gerbils: role of prostacyclin and thromboxane A₂. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v.49, n.3, p.695-697, Sept., 1993a.

- ARRUZAZABALA, M. L.; VALDÉS, S.; MÁS, R.; CARVAJAL, D.; FERNÁNDEZ, L.
Comparative study of policosanol, aspirin and the combination therapy policosanol-
aspirin on platelet aggregation in healthy volunteers. **Pharmacological Research**,
v.36, n.4, p. 293-297, Oct., 1997.
- ARRUZAZABALA, M. L.; NOA, M.; MENÉNDEZ, R.; VALDÉS, S.; MÁS, R.; CARBAJAL, D.;
MOLINA, V. Protective effect of policosanol on atherosclerotic lesions in rabbits with
exogenous hypercholesterolemia. **Brazilian Journal of Medical and Biological
Research**, Ribeirão Preto, v.33, n.7, July, p.835-840, 2000.
- ARRUZAZABALA, M. L.; VALDÉS, S.; MÁS, R.; FERNÁNDEZ, L.; CARBAJAL, D. Effect of
policosanol successive dose increases on platelet aggregation in health volunteers.
Pharmacological Research, London, v.34, n. 5/6, p.181-185, Nov./Dec, 1996.
- ASTM – AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **Standart test method for
needle penetration of petroleum waxes**. Annual Book of ASTM Satandarts,
Philadelphia, D 1321, 2002.
- AZZAM, A. M. Further investigations on cane wax refining and bleaching. **Fette Seifen
Anstrichmittel**, v.88, n.5, p.191-194, 1986.
- BARRERA-ARELLANO, D. Laboratório de óleos de gorduras Unicamp. Brasil.**Comunicação
pessoal**, 2007.
- BENÍTEZ, M.; ROMERO, C.; MÁS R.; FERNADÉZ, L.; FERNADÉZ, J. C. A Comparative
study of policosanol versus pravastatin in patients with type II hypercholesterolemia.
Current Therapeutic Reseach, New York, v. 58, n.11, p.859-867, Nov., 1997.
- BERNAL, J. L.; JIMÉNEZ, J. J.; NOZAL, M. J.; TORIBIO, L.; MARTÍN, M. T. Physico-
chemical parameters for the characterization of pure beeswax and detection of
adulterations. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 107, n.3, p.
158-166, Mar. 2005.
- BOTEGA, D. C. Z.; BARRERA-ARELLANO, D. **Clarificação de cera bruta de cana-de-
açúcar utilizando peróxido de hidrogênio**. Anais do XIV Congresso Latino
Americano de Óleos e Gorduras. LA-AOCS 078. CD 15BN nº978-85-61104-00-9.
Sociedade Brasileira de Óleos e Gorduras. 12-14 nov 2007, Florianópolis, SC. Brasil.

- CANETTI, M.; MOREIRA, M.; MÁS, R.; ILLNAIT, J.; FERNÁNDEZ, L.; FERNÁNDEZ, J.; DIAZ, E.; CASTAÑO, G. A two-year study on the efficacy and tolerability of policosanol in patients with type II hyperlipoproteinaemia. **International Journal of Clinical Pharmacology Research**, v.15, n. 4, p. 159-165, 1995.
- CANETTI, M.; MOREIRA, M.; MÁS, R.; ILLNAIT, J.; FERNÁNDEZ, L.; FERNÁNDEZ, J. C. Effects of policosanol on primary hypercholesterolemia: a 3-year open-extension follow-up. **Current Therapeutic Research**, New York, v. 58, n.11, p.868-875, Nov., 1997.
- CARBAJAL, D.; MOLINA, V.; ARRUZAZABALA, L.; RODEIRO, I.; MAS, R.; MAGRANER, J. Possible cytoprotective mechanism in rats of D-002, an anti-ulcerogenic product isolated from beeswax. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. London, v. 48, n. 8, p.858-860, Aug., 1996.
- CARBAJAL, D.; MOLINA, V.; VALDES, S.; ARRUZAZABALA, L.; MAS, R. Antiulcer activity of higher primary alcohols of beeswax. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. London, v. 47, n. 9, p.731-733, Sept., 1995.
- CASTANO, G.; CANETTI, M.; MOREIRA, M.; TULA, L.; MÁS, R.; ILLNAIT, J.; FERNÁNDEZ L.; FERNÁNDEZ, J. C.; DÍAZ, E. Efficacy and tolerability of policosanol in elderly patients with type II hypercholesterolaemia: a 12-month study. **Current Therapeutic Research**, v. 56, n.8, p.819-828, Aug.,1995.
- CASTANO, G.; MÁS, R.; ARRUZAZABALA, M. L.; NOA, M.; ILLNAIT, J.; FERNÁNDEZ, J. C.; MOLINA, V.; MENÉNDEZ, A. Effects of policosanol and pravastatin on lipid profile, platelet aggregation and endothelemia in older hypercholesterolemic patients. **International Journal of Clinical Pharmacology Research**, v.19, n.4, p.105-116, 1999.
- CASTANO, G.; MÁS, R.; FERNÁNDEZ, L.; FERNÁNDEZ, J. C.; ILLNAIT, J.; LÓPEZ, L. E.; ALVAREZ, E. Effects of policosanol on postmenopausal women with type II hypercholesterolemia. **Gynecological Endocrinology**, v.14, n.3, p.187-195, Jun., 2000.

- CASTANO, G.; MÁS, R.; NODARSE, M.; ILLNAIT, J.; FERNÁNDEZ, L.; FERNÁNDEZ, J. C. One year study of the efficacy and safety of policosanol (5 mg twice daily) in the treatment of type II hypercholesterolaemia. **Current Therapeutic Research**, v. 56, n.3, p. 296-304, Mar., 1995a.
- CASTANO, G.; TULA, L.; CANETTI, M.; MORERA, M.; MÁS, R.; ILLNAIT, J.; FERNÁNDEZ, L.; FERNÁNDEZ, J. C. Effects of policosanol in hypertensive patients with type II hypercholesterolaemia. **Current Therapeutic Research**, v. 57, n.9, p.691-699, Sept., 1996.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Cana-de-açúcar Safra 2007/2008 Segundo levantamento Agosto de 2007**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/>>. Acesso em: 09 out 2007.
- COPERSUCAR. **Fundamentos do processo de fabricação de açúcar e álcool**. Piracicaba, 1988. p. 1-12 (Série Industrial, 20).
- CRESPO, N.; ILLNAIT, J.; MÁS, R.; FERNANDEZ, L.; FERNANDEZ, J.; CASTAÑO, G. Comparative study of the efficacy and tolerability of policosanol and lovastatin in patients with hypercholesterolemia and noninsulin dependent diabetes mellitus. **International Journal of Clinical Pharmacology Research**, v.19, n.4, p.117-127, 1999.
- DANIELS, J.; ROACH, B.T. Taxonomy and evolution. In: HEINZ, D.J. (Ed.) **Sugarcane improvement through breeding**. Amsterdam: Elsevier, 1987. p.7-84.
- DELGADO, A. A. & CESAR, M. A. A. **Elementos de tecnologia e engenharia do açúcar de cana**. Piracicaba, 1977, p. 365-752.
- DURDEN, B. S.; DOERING, P. L. Efficacy of nutritional supplements used by athletes. **Clinical Pharmacy**, v.12, n.12, p.900-908, Dec., 1993.
- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **CERA DE ABELHA: banco de dados**. Disponível em: <<http://www.faostat.fao.org>> Acesso em: 14 mar. 2005.

- FERNANDEZ , J. C.; MÁS, R.; CASTANO, G.; MENENDEZ R.; AMOR, A. M.; GOMZALEZ, R. M.; ALVAREZ, E. Comparison of the efficacy, safety and tolerability of policosanol versus fluvastatin in elderly hypercholesterolaemic women. **Clinical Drug Investigation**, v. 21, n.2, p.103-113, 2001.
- FRUTUOSO, E. S. **Extração, refinação e estudo das propriedades termodinâmicas de cera de cana-de-açúcar**. 1989. Dissertação (Mestre em Ciências) – Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1989.
- GANDRA, K. M. **Obtenção e caracterização de cera de cana-de-açúcar e suas frações**. 2006. 148p. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.
- GARCIA, A. & GARCIA, M.A. Soxhlet extraction of crude wax from sugar cane. **The Journal of Tecator**, v. 20, n. 1, 1996.
- GARCIA, A. G.; RODRIGUEZ, G. B.; TIO, M. V. Cera refinada de torta. In: ICIDCA (Instituto Cubano de Pesquisa dos Derivados de Cana de Açúcar). **Manual dos derivados de cana-de-açúcar**. Brasília: ABIPTI, 1999. 474p. p. 399-404.
- GARCIA, A.; GARCIA, M. A; RIBAS, M.; BROWN, A. Recuperación de cera de cutícula de caña de azúcar mediante separación mecánica y extracción con solventes. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 54, n. 2, p.169-174, 2003.
- GREENER-DONHOWE, I.; FENNEMA, O. Water vapor and oxygen permeability of wax films. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v. 70, n. 9, p.867-843, Sept., 1993.
- GUNAWAN, E. R.; BASRI, M.; RAHMAN, M. B. A.; SALLEH, A. B.; RAHMAN, R. N. Z. A. Study on response surface methodology (RSM) of lipase-catalyzed synthesis of palm-based wax ester. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 37, n.7, p. 739–744, Dec., 2005.
- HAMILTON, R. J. Analysis of waxes. In: HAMILTON, R. J. **Waxes: Chemistry, molecular biology and functions**. Scotland: Dundee, 1995. v.6, p. 311-342.

- HARGROVE, J. L.; GREENSPAN, P.; HARTLE, D. K. Nutritional significance and metabolism of very long chain fatty alcohols and acids from dietary waxes. **Experimental Biology and Medicine**, MayWood, v.229, n.3, p.215-226, Mar., 2004.
- HARTMANN, L. & LAGO, R. C. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v. 22, n. 8, p. 475-476, 1973.
- HASS, M. J.; BLOOMER, S.; SCOTT, K. Simple, high-efficiency synthesis fatty acid methyl esters from soapstock. **Journal of American Oil Chemists Society**, Champaign, v.77, n.4, p. 373-379, Apr., 2000.
- HERNANDEZ, E. & BAKER, R. A. Candelilla wax emulsion preparation and stability. **Journal of Food Science**, v, 56, n. 5, p. 1392-1387, Sept., 1991.
- HERNÁNDEZ, F.; ILLNAIT, J.; MÁS, R.; CASTAÑO, G.; FERNÁNDEZ, L.; GONZÁLEZ, M.; CORDOVI, N.; FERNÁNDEZ, J. Effect of ateromixol (policosanol) on serum lipids and lipoproteins in healthy volunteers. **Current Therapeutic Research**, New York, v. 51, p.568-575, 1992.
- HWANG, K. T.; CUPPETT, S. L.; WELLER, C. L.; HANNA, M. A. Properties, composition, and analysis of grain sorghum wax. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v.79, n.6, p.521-527, June, 2002.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em:
<<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa09200405.shtm>>. Acesso em: 09 out 2007.
- ICIDCA (Instituto Cubano de Pesquisa dos Derivados de Cana de Açúcar). **Manual dos derivados de cana-de-açúcar**. Brasília: ABIPTI, 1999. p.399-404. e 474p.
- JACKSON, M. A. & ELLER, F. J. Isolation of long-chain aliphatic alcohols from beeswax using lipase-catalyzed methanolysis in supercritical carbon dioxide. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 37, n.2, p. 173-177, Apr., 2006.
- JOHNSON, R. W. Fatty alcohols. In: JOHNSON, R. W; FRITZ. **Fatty acids in industry: processes, properties, derivatives, applications**. New York: Marcel Dekker, 1988. p. 217-231.

- JUNIOR, P. I. H. B.; SENNA, S. M. Ácidos graxos e aterosclerose. In: CURI, R.; POMPÉIA, C.; MIYASAKA, C. K.; PROCÓPIO, J. **Entendendo as gorduras: os ácidos graxos**. 1ªed. Barueri: Manole, 2002. Cap. 38, p. 539-554
- KANYA, T. C. S.; RAO, L. J.; SASTRY, M. C. Characterization of wax esters, free fatty alcohols and free fatty acids o crude wax from sunflower seed oil refineries. **Food Chemistry**, v. 101, n. 4, p. 1552-1557, 2007.
- KATO, S.; KARINO, K. I.; HASEGAWA, S.; NAGASAWA, J.; NAGASAKI, A.; EGUCHI, M.; ICHINOSE, T.; TAGO, K.; OKUMORI, H.; HAMATANI, K.; TAKAHASHI, M.; OGASAWARA, J.; MASUSHIGE, S.; HASEGAWA, T. Octacosanol affects lipid metabolism in rats fed on a high-fat diet. **British Journal of Nutrition**, v. 73, n.3, p.433-441, Mar., 1995.
- KRELL, R. **Value added products from beekeeping**. Fao Agricultural Services Bulletin, n.124, 1996. <Disponível em: www.fao.org/docrep/w0076e/w0076e13htm>.
- LAGUNA GRANJA, A.; HERNANDEZ, M.; QUINTANA, D. C.; VALMANA, L. A.; FERREIRO, R. M.; MESA, M. G. **Mixture of higher primary aliphatic alcohols, its obtantion from sugar cane wax and its pharmaceutical uses**. U.S. patent 5.663.156, 02/09/1997.
- LAGUNA GRANJA, A.; HERNANDEZ, M.; QUINTANA, D. C.; VALMANA, L. A.; FERREIRO, R. M.; MESA, M. G. **Mixture of higher primary aliphatic alcohols, its obtantion from sugar cane wax and its pharmaceutical uses**. U.S. patent 5.856.316, 1999.
- LARIOS, M. E.; PÉREZ, M. D.; MARRERO, R. M. Estudio de la distribución de la cera en las distintas partes de la caña. **Centro Azúcar**, Santa Clara, v.20, n.3, p.6-10,1993.
- LE HEN-FERRENBACH, C. Natural Fatty Alcohols. In: KARLESKIND, A. **Oils and Fats Manual: A comprehensive treatise properties-production-applications**. Paris: Lavoisies Publishing, 1996. volume 2, capítulo 13, p.1082-1099.
- LEME, Jr., BORGES, J.M. **Açúcar de cana**. Viçosa: Imprensa Universitária, 1965. 328p.
- LI, S.; PARISH, E. J. The chemistry of waxes and sterols. In: AKOH, C.; MIN, D. B. **Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology**. New York: Marcel Dekker, 1998. Chap. 4, p. 89-114.

- LUCCHESI, A. A. Processos fisiológicos da cultura da cana-de-açúcar (*Saccharum ssp.*). **Boletim técnico**, ESALQ/CENA, PCLQ/USP, Piracicaba. n.7, p.1-3, 1995.
- LUTZ, H.; ESUOSO, K.; KUTUBUDDIN, M.; BAYER, E. Low temperature conversion of Sugar-Cane by-products. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v.15, n.2, p.155-162, Aug., 1998.
- MARQUES, M. P. **Preparação e reatividade dos álcoois**. Trabalhos práticos, Tecnologia Bioquímica I, Departamento de Bioquímica, FCTUC, 2004. Disponível na Internet: < www.uc.pt/bioquimica/discipli/seb05.pdf>
- MAS, R.; CASTANO, G.; ILLNAIT, J.; FERNADEZ, L.; FERNANDEZ, J.; ALEMÁN, C.; PONTIGAS, V.; LESCAY, M. Effects of policosanol in patients with type II hypercholesterolaemia and additional coronary risk factors. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v.65, n.4, p. 439-447, Apr., 1999.
- MEADE, G. P. **Manual del azucar de caña**. Montaner & Simon, 1967. 940p.
- MENENDEZ, R.; AMOR, A. M.; RODEIRO, I., GONZÁLEZ, R. M.; GONZÁLEZ, P. C.; ALFONSO, J. L.; MÁS, R. Policosanol modulates HMG-CoA reductase activity in cultured fibroblasts. **Archives of Medical Research**, v. 32, n. 1, p. 8-12, Jan/Feb., 2001.
- MENENDEZ, R.; SOTOLONGO, V.; FRAGA, V.; AMOR, A. M.; GONZALEZ, R.; DEL RIO, A.; JIMENEZ, S.; PEREZ, N.; MAS, R. Niveles plasmaticus y excrecion de la radiactividad total en voluntarios sanos tras la administracion ora de octacosanol-3H. **Revista CENIC Ciencias Biologicas**, Havana, n.27; p. 32-35, 1996.
- MESA, A. R.; MÁS, R.; NOA, M.; HERNÁNDEZ, C.; RODEIRO, I.; GÁMEZ, R.; GARCÍA, M.; CAPOTE, A.; ALEMÁN, C. L. Toxicity of policosanol in beagle dogs: one-year study. **Toxicology Letters**, v.73, n.2, p.81-90, Aug., 1994.
- MINAZ (Ministerio del Azúcar). Informe sobre la refinación de cera de cachaza en Cuba. **Dirección de derivados**. La Habana, p. 13, 1980.
- MOLINA, V.; CARBAJAL, D.; ARRUZAZABALA, L.; MÁS, R. Therapeutic effect of D-002 (Abexol) on gastric ulcer induced experimentally in rats. **Journal of Medicinal Food**, v. 8, n. 1, 59-62, Mar, 2005.

- O'KEEFE, S. F. Nomenclature and classification of lipids. In: AKOH, C.; MIN, D. B. **Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology**. New York: Marcel Dekker, 1998. Chap. 1, p. 1-36.
- PATURAU, J. M. **By-products of the Cane Sugar Industry**. New York: Elsevier Publishing Company, 1969. 274p.
- PEPPING, J. Policosanol. **American Journal Health-System Pharmacy**, Bethesda, v.60, n.1, p.1112-1115, June, 2003.
- PERKINS, E. G. Nomenclature and classification of lipids. In: PERKINS, E. G. **Analysis of fats, oils and lipoproteins**. Champaign: AOCS Press, 1993. Chap.1, p.1-19.
- PHUKAN, A. C.; BORUAH, R. K. Extraction and evaluation of microcrystalline wax from press mud waste of sugar industry. **Separation and Purification Technology**, v.17, n., p.189-194, 1999.
- PINA, M.; PIOCH, D.; GRAILLE, J. Rapid analysis of jojoba wax fatty and alcohols after derivatization using Grignard reagents. **Lipids**, v. 22, n. 5, p. 358-361, May, 1987.
- PONS, P.; RODRÍGUEZ, M.; MÁS, R.; ILNAIT, J.; FERNÁNDEZ L.; RABAINA, C.; FERNÁNDEZ, J. C. One-year efficacy and safety of policosanol in patients with type II hypercholesterolaemia. **Current Therapeutic Research**, v.55, n.9, p.1084-1092, Sept., 1994.
- PULZATTO, M.E. **Ação do fósforo e enxofre na clarificação por sulfodefecação do caldo de cana-de-açúcar**. 1995. 77p. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1995.
- QUINTELA, A. C. R.; ANDRARE, L. A. B.; CARVALHO, G. J. ; BOCARDO, M. R. Efeito do plantio de cana inteira com e sem desponte e da compactação pós-cobertura em duas variedades de cana-de-açúcar. **STAB: Açúcar, álcool e subprodutos**, Piracicaba, v.16, n. 1, p. 12-13, 1997.
- RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. **Pharmacology**, 4th ed. London: Churchill Livingstone, 1999:830.

- ROZÁRIO, C. H. R. **Desenvolvimento de um processo para a obtenção de policosanol e partir de cera de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*)**. 2006. 105p. Tese (Mestrado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.
- SAINT-JOHN, M.; MCNAUGHTON, L. Octacosanol ingestion and its effects on metabolic responses to submaximal cycle ergometry, reaction time and chest and grip strength. **Int Clin Nutr Rev**, v. 6, p.81-87,1986.
- SIDRA - Sistema IBGE de Recuperação Automática. **CARNAÚBA: quantidade produzida na extração vegetal por tipo de produto extrativo: banco de dados**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>> Acesso em: 09 out 2007.
- SONNTAG, N. O. V. Structure and composition of fats and oils. In: SWERN, D. **Bailey's industrial oil and fat products** - Vol. 1. New York: John Wiley & Sons, 1979. p. 1-98.
- SPENCER, M. **Cera de caña de azúcar**. Manual de azúcar de caña. p.24.1977.
- STRÁNSKY, K.; ZAREVÚCKA, M.; VALTEROVÁ, I.; WIMMER, Z. Gas chromatographic retention data of wax esters. **Journal of Chromatography A**, v. 1128, n.1-2, p. 208-219, Sept., 2006.
- STUHLIK, M.; ZAK, S. Vegetable lipids as components of functional foods. **Biomedical Papers**, Olomouc, v.146, n.2, p.3-10, Nov., 2002.
- SUNDE, C. J. & RICHEY JR, T. B. **Process for producing wool wax alcohols and fatty acids**. U.S. Patent 3,526,647. 01/09/1970.
- SZAFRANEK, B. M. & SYNAK, E. E. Cuticular waxes from potato (*Solanum tuberosum*) leaves. **Phytochemistry**, v.67,n.1, p.80-90, Jan., 2006.
- TAUPIER, L. O. G. A diversificação da cana no novo século. In: ICIDCA (Instituto Cubano de Pesquisa dos Derivados de Cana de Açúcar). **Manual dos derivados de cana-de-açúcar**. Brasília: ABIPTI, 1999. 474p. p.3-17.
- TAYLOR, J. C.; RAPPORT, L.; LOCKWOOD, G. B. Octacosanol in human health. **Nutrition**, New York, v.19, n.2, p.192-195, Feb., 2003.

VALI, S. R.; JU, Y.; KAIMAL, T. N. B.; CHERN, Y. A process for the preparation of food-grade rice bran wax and the determination of its composition. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v.82, n.1, p.57-64, Jan., 2005.

VIEIRA, T. F. S. **Obtenção de cera de cana-de-açúcar a partir de subproduto da indústria sucro-alcooleira: extração, purificação e caracterização**. 2003. 139p. Tese (Doutor em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

WARTH, A. H. **The chemistry and technology of waxes**. New York: Reinhold Publishing Corporation, 1947. 519p.

WELLER, C. L.; CUPPETT, S.L.; HUA, L. C.; LOCHTE-WATSON, K. R.; GAUDOIN, C.; ARRAULT, J.; HUBBARD, C. M.; MUA, J. P. Solvent influence on yield and fractions of grain sorghum wax. **American Society of Agricultural Engineers**, St. Joseph, n. 00-6134, 2000.