

cadeias longas monoinsaturadas (C18:1) em proporções próximas a 90% e com praticamente ausências de poli-insaturações. O uso dessa tecnologia permite customizar as cadeias carbônicas e o nível de insaturação. Com isto, podem-se obter óleos com características únicas o que não é possível com as oleaginosas. Desta forma, o objetivo dessa nova fonte de óleo não é a substituição dos óleos à base de oleaginosas, mas sim agregar novas funções/ usos a esse tipo de óleo, e assim, incentivar sua produção em escala industrial. Do ponto de vista produtivo, as microalgas apresentam maior rendimento de óleo extraído por área cultivada, quando comparadas com plantas superiores (oleaginosas).

Objetivo deste trabalho foi avaliar a potencialidade de aplicação de um óleo extraído de uma nova fonte, as microalgas, aqui denominado de OV-M, como fluido isolante.

2.0 - MATERIAL E MÉTODO

2.1 Aquisição e caracterização do óleo

Foram adquiridas amostras de OVIs, provenientes de oleaginosas, comercialmente disponíveis no Brasil, como Envirotemp FR3 formulado a partir do óleo de soja + aditivos), Biovolt A (formulado a partir óleo de milho + aditivos), Biovolt B (formulado a partir do óleo de soja + aditivos) e Biovolt HW (formulado a partir de sementes de girassol com alto teor de ácido oleico + aditivos). Amostras do óleo vegetal de microalgas (OV-M) foram obtidas da Solazyme Inc. Os OVIs e o OV-M foram caracterizados de acordo com ensaios descritos na norma ABNT NBR 15422 (5).

2.2 Ensaio de estabilidade à oxidação

Os OVIs e o OV-M foram analisados pelos métodos Rancimat (6) e pela bomba rotatória (7).

A medida do período de indução (PI) foi realizada pelo método do Rancimat sendo o ensaio executado a 130 °C, utilizando-se 3 g de óleo (6). O método Rancimat baseia-se no monitoramento da condutividade. A amostra de óleo é aquecida em um banho termostatizado, com borbulhamento de oxigênio. À medida que a amostra é degradada são formados ácidos voláteis de baixa massa molar que são carregados para um frasco contendo água destilada e um eletrodo de condutividade. Assim, à medida que os compostos ácidos voláteis são carregados para a água a condutividade da fase aquosa aumenta continuamente até que, em um determinado tempo (período de indução) ocorre um aumento brusco neste parâmetro. Este aumento brusco pode ser facilmente identificado no gráfico de condutividade versus tempo e, corresponde ao tempo que a amostra resiste a degradação acelerada, nas condições experimentais utilizadas (4). Na Figura 1 é apresentado o gráfico da condutividade *versus* o tempo de realização do ensaio bem como a determinação do PI (15,50 h).

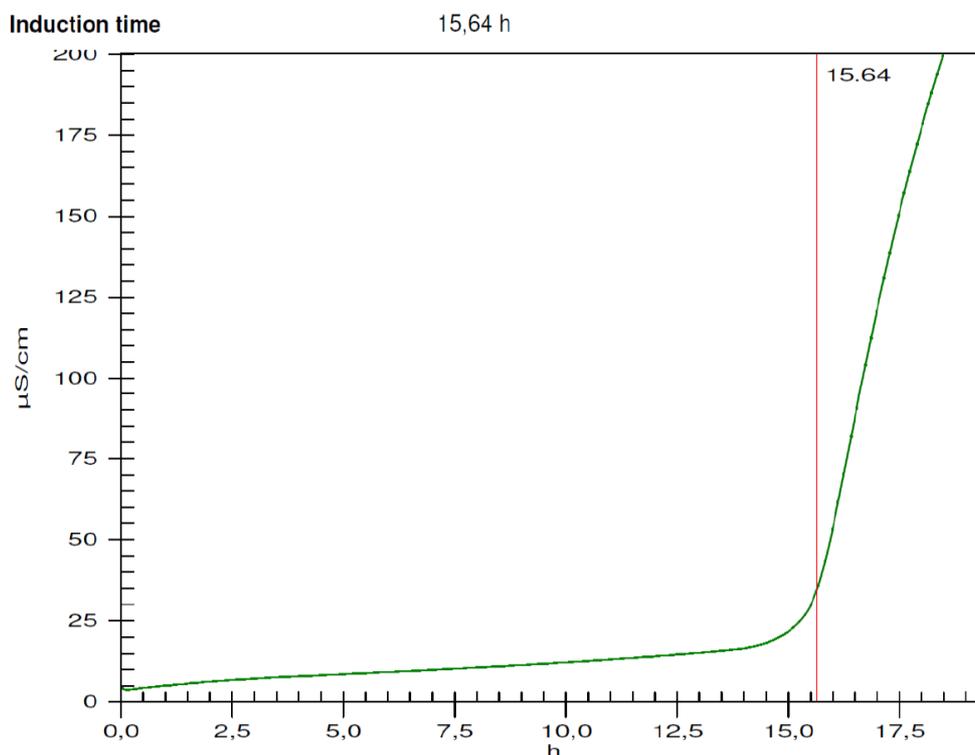


FIGURA 1 – Curva de condutividade obtida no método Rancimat para amostra de OVI tipo Biovolt A.

2.3 Toxicidade do óleo

A toxicidade do OV-M foi determinada em ratos, de acordo com a metodologia descrita pela OECD 408 (8). Para isso, 80 ratos (40 machos [194 à 215 g] e 40 fêmeas [149 à 179 g]) da linhagem Sprague-Dawley CD® IGS®, com 7 a 8 semanas de idade, foram igualmente distribuídos em quatro grupos (N=20; 10 macho e 10 fêmeas). Após a formação dos grupos, os ratos selecionados foram aclimatadas às condições experimentais por um período de 6 dias. Ao final desse período, os animais foram pesados e avaliados quanto à condição geral de saúde. Os ratos dos quatro grupos foram alimentados, com ração basal (dieta padrão) contendo diferentes concentrações de OV-M (0 [controle], 2,5, 5 e 10 %), por 90 dias. A ração basal foi ofertada para todos os tratamentos após a ingestão da ração contendo OV-M a fim de garantir que os animais pudessem ser alimentados até completa saciedade, *ad libitum*. Durante todo o período experimental água filtrada de qualidade foi disponibilizada *ad libitum*.

O monitoramento visual dos animais foi realizado duas vezes ao dia, durante todo o período experimental, para identificação de alteração das condições de saúde e verificação de óbito. Semanalmente, foi mensurado o consumo individual e o peso dos animais para o cálculo do ganho de peso e da eficiência alimentar. A partir desses dados foi calculado quantidade de OV-M consumida.

No octogésimo sétimo dia de exposição, os animais foram oftalmologicamente avaliados. Cerca de 15 horas antes do final do período experimental, os animais foram submetidos à jejum (sólido e líquido). Ao final do período de jejum, os animais foram anestesiados (isoflurane) e amostras de sangue, urina e fezes foram coletadas. Após a coleta das amostras, os indivíduos foram eutanasiados por ensanguinação pela artéria aorta abdominal. Foi realizada amostragem de corpo total para posterior realização pesagem, necropsia e histopatologia dos órgãos. Os parâmetros analisados, pelo Centro Haskell para Ciências da Saúde e Ambiental da DuPont, nas amostras de sangue, urina e tecidos estão descritos na Tabela 1.

TABELA 1 - Descrição dos parâmetros hematológicos, bioquímicos e histológicos avaliados nas amostras de sangue, urina e tecidos dos animais (machos e fêmeas) após exposição ao OV-M.

Matriz	Parâmetros/Tecidos Analisados
Sangue	Hematológicos: Contagem de eritrócitos, concentração de hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio, Hemoglobina corpuscular média, amplitude de distribuição do tamanho dos eritrócitos, contagem absoluta de reticulócitos, contagem de plaquetas, total de células brancas, contagem diferencial de leucócitos, tempo de atividade da protrombina e tempo de tromboplastina parcial ativada. Bioquímicos: Aspartato aminotransferase, alanina-aminotransferase, asorbitol desidrogenase, fosfatase alcalina, bilirrubina total, nitrogênio uréico, creatinina, colesterol total, triglicerídeos, glicemia, proteína total do soro, albumina, globulina, cálcio, fósforo inorgânico, sódio, potássio e cloreto.
Urina	Bioquímicos: pH, glicose, proteína, cetona, bilirrubina e urobilinogênio. Visuais/microscópicos: Qualidade, cor, claridade, volume, gravidade específica da urina, sedimento.
Tecidos	Pesagem: Glândulas adrenais, rins, baço, cérebro, fígado, timo, epidídimos, testículos, ovários e útero. Histopatologia: Esôfago, estômago, duodeno, jejuno, íleo, cólon, ceco, reto, fígado, baço, pâncreas, adrenais, rins, linfonodos, timo, tireoide, paratireoide, bexiga, tubas uterinas, útero, ovários, vagina, próstata, vesículas seminais, medula espinhal, medula óssea, cerebelo, ciático, coração, laringe, faringe, traqueia, glândulas salivares, aorta torácica, ossos e pulmão.

2.4 Estabilidade no ambiente aquático

As metodologias para a aplicação dos testes de biodegradação aquática (9) e fácil biodegradabilidade (10) são aplicadas às amostras de compostos químicos com o objetivo de avaliar o potencial de biodegradação aerobiótica (por meio da ação de microrganismos) que aquele produto sofrerá quando liberado no meio ambiente aquático. Nesse contexto, apesar de algumas diferenças na expressão do resultado de ambas, as metodologias descritas pela OECD e pela EPA avaliam o mesmo indicador: a quantidade de CO₂ produzido pelos microrganismos durante o processo de degradação da substância testada.

Outro fator que justifica, agora do ponto de vista logístico, a utilização da metodologia da OECD em detrimento a da EPA, é a baixa disponibilidade de empresas acreditadas que executem essa metodologia. Dessa forma, a estabilidade do OV-M no meio aquático foi testada por meio da determinação da biodegradabilidade imediata (10). Para isso, quantidades de OV-M, correspondente à 10 mgC/L, foram inseridas em frascos contendo solução nutritiva e um *pool* de microrganismos. Os frascos foram submetidos à aeração em fluxo contínuo com ar previamente filtrado em hidróxido de sódio. Após a passagem do ar pelo frasco contendo hidróxido de sódio e pelo frasco contendo a amostra (solução nutritiva e microrganismos), o mesmo foi direcionado para frascos contendo hidróxido de bário, para a captura do CO₂. O teste foi conduzido em fotoperíodo de 0:24 h (zero h claro e 24 h escuro) com temperatura entre 20 e 25 °C por período de, no máximo, 28 dias.

Nos ensaios, foram utilizados tratamentos branco (solução mineral) e substância teste (10 mgC/L), ambos em duplicata. Outros dois tratamentos, um contendo solução padrão de biodegradabilidade (benzoato de sódio) e outro com solução inibidora (benzoato de sódio e substância teste). Ao final da exposição, a biodegradabilidade da amostra foi avaliada pela evolução de CO₂, que é calculada considerando-se a diferença de volumes de HCl utilizados para a titulação do branco e dos tratamentos contendo as amostras testadas.

O teste é considerado válido se a diferença entre os extremos nas duplicatas for menor que 20% no momento que a amostra demonstra um platô e/ou onde não se observa mais a evolução de CO₂ (no final do teste ou após a janela de 10 dias de incubação). A substância teste deve apresentar biodegradação, atingindo 25% de liberação de CO₂ em 14 dias, demonstrando não causa inibição do crescimento dos microrganismos.

3.0 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de caracterização, obtidos para os óleos novos sob investigação (TABELA 2), estão em conformidade com a especificação constante na norma ABNT NBR 15422 (5). Baseado nos valores encontrados para o OV-M, pode-se concluir que esse óleo atende a especificação básica para utilização como fluido isolante em equipamentos elétricos. Ensaio de compatibilidade desse óleo com os principais materiais internos de transformadores estão em andamento.

Os métodos tradicionalmente utilizados para avaliar a estabilidade a oxidação de óleo mineral isolante (OMI) são o envelhecimento acelerado pela norma ASTM D2440 (11) e o ensaio da bomba rotatória (7). No método da ASTM D2440 (11), utiliza-se para avaliação do envelhecimento do óleo os ensaios de índice de neutralização e de determinação de borra. Como o envelhecimento do óleo vegetal, na presença de oxigênio, não forma borra, mas viscosidade do fluido aumenta, este método não foi utilizado neste trabalho. A sugestão é que este método seja revisado e adaptado para o OVI.

Na Tabela 3 estão mostrados os resultados para os ensaios de estabilidade a oxidação pela bomba rotatória (RBOT) para os diferentes OVIs e o OV-M. Como as condições do ensaio da bomba rotatória são muito agressivas, o óleo vegetal oxida muito rápido neste tipo de ensaio. Os valores encontrados para os óleos Envirotemp FR3 e Biovolt B estão dentro do erro do experimento. Já os óleos Biovolt A, Biovolt HW e OV-M apresentaram resultados superiores porém ainda muito inferiores aos normalmente encontrados para o óleo mineral isolante, que em geral apresenta valores superiores a 200 minutos. A funcionalidade química do OVI (éster) é responsável pelos valores inferiores em comparação ao óleo mineral isolante (hidrocarboneto), por outro lado, essa mesma funcionalidade confere alta biodegradabilidade aos OVIs. Já a diferença observada entre os diferentes OVIs analisados pode ser explicada com base na composição química (tipos de ácidos graxos) e na formulação dos óleos pelos fabricantes (aditivos adicionados, estabilizantes, etc.).

O método Rancimat tem sido usado há muito tempo para avaliar a estabilidade a oxidação de óleos vegetais comestíveis (12, 13) e de óleos vegetais isolantes (3,4). Nas condições de realização dos ensaios, pode-se perceber que os óleos apresentaram para o método Rancimat um aumento no período de indução, conforme segue: Envirotemp FR3 < Biovolt B < Biovolt A < OV-M < Biovolt HW (TABELA 3). Porém, para o método Rancimat a variação do período de indução entre os óleos Envirotemp FR3, Biovolt B e Biovolt A em comparação aos óleos Biovolt HW e OV-M foi menos acentuada em comparação ao método da bomba rotatória. Outro item a observar, é que para o método Rancimat a diferença entre os óleos Envirotemp FR3 e Biovolt B (9 horas), por exemplo, é bem perceptível enquanto que para o método da bomba rotatória a diferença observada (3 minutos) está dentro do erro experimental do método. Convém ressaltar que o desvio padrão médio para o método do Rancimat é em torno de 0,5 horas. Em suma, os resultados obtidos mostram que a sensibilidade do método Rancimat para OVIs que apresentem baixos períodos de indução é maior em comparação a método da bomba rotatória e que o OV-M apresentou valores intermediários entre o OVI formulado a partir do óleo de milho (Biovolt A) e o de alto teor de ácido oleico (Biovolt HW).

TABELA 2 - Caracterização dos óleos novos sob investigação tal qual recebidos.

Parâmetro/Característica	Método de ensaio (ABNT NBR)	Tipo de óleo				
		Envirotemp FR3	Biovolt B	Biovolt A	Biovolt HW	OV-M
Densidade relativa a 20/4 °C	7148	0,9197	0,9184	0,9182	0,9125	0,9160
Viscosidade cinemática à 40 °C	10441	36,3	33,2	34,7	40,8	45,2
Teor de água	5758	68	74	100	80	152
Ponto de fulgor (°C)	11341	317	316	314	310	310
Ponto de combustão (°C)	11341	352	348	344	342	348
Rigidez dielétrica	NBR IEC 60156	53	51	46	59	60
Fator de perdas dielétricas a 25 °C	12133	0,1	0,15	0,13	0,10	0,064
Fator de perdas dielétricas a 90 °C	12133	1,3	2,0	1,8	1,5	0,58
Índice de neutralização	14248	0,03	0,03	0,03	0,03	0,05

Fonte: (5)

TABELA 3 - Ensaio comparativos de estabilidade a oxidação realizados em diferentes OVIs e o OV-M, pelos métodos Rancimat e bomba rotatória.

Estabilidade a oxidação	Envirotemp FR3	Biovolt B	Biovolt A	OV-M	Biovolt HW
Método Rancimat*, horas	~ 3	~ 12	~ 16	~ 19	~ 28
Método Bomba Rotatória, minutos	~ 7	~ 10	~ 17	~ 25	~ 90

*Ensaio realizado à 130 °C.

Nos testes de toxicidade oral realizados em roedores não foi observada mortalidade ou alterações dos sinais clínicos e oftalmológicos, bem como alteração de peso, ganho de peso corporal, consumo de alimentos ou alterações na eficiência alimentar, atribuíveis à ingestão do OV-M. Foram observadas pequenas reduções, sem diferença estatística ($p > 0,05$), no consumo de alimento para os machos do grupo 4 (100.000 ppm). Esse fato pode estar relacionado com pequenas diferenças na densidade de energia do material teste em relação à dieta controle e/ou a diferenças leves de palatabilidade.

A exposição ao OV-M não induziu o aparecimento de patologias clínicas, macroscópicas ou alterações de peso de órgãos associados. As alterações histopatológicas observadas nas glândulas adrenais de fêmeas do grupo 2 (vacuolização citoplasmática) também podem estar relacionadas com a alteração da densidade da dieta, porém do ponto de vista toxicológico, tais alterações são consideradas de mínima gravidade, sem impacto toxicológico.

Em resumo, nas condições do presente estudo, não houve alterações, hematológicas, clínicas, bioquímicas relacionadas com a administração de OV-M. Todas as alterações foram consideradas incidental e sem impacto biológico, pois não foram acompanhadas por qualquer outra alteração clínica ou histopatológica associada. Como tal, estas e todas as outras variações foram considerados toxicologicamente insignificantes. Nas condições deste estudo e, com base nos parâmetros toxicológicos avaliados, o nível sem efeito adverso observado (NOAEL), para a administração de OV-M na dieta de ratos, foi 100.000 ppm, a dose mais elevada testada.

Geralmente, testes de toxicidade utilizados para a caracterização de um produto avaliam apenas um indicador: a mortalidade dos animais expostos à substância teste. Dessa forma, efeitos subcrônicos (aqueles que não causam mortalidade) não são avaliados (14). Por esse motivo, o ensaio de toxicidade utilizado no presente trabalho contribui de maneira efetiva para a avaliação dos efeitos do OV-M para organismos vivos, pois apresenta resultados de análises em vários níveis de complexidade biológica (bioquímicos, hematológicos, histológicos e clínico-patológicos), os quais asseguram maior confiabilidade aos resultados obtidos.

Após a realização do ensaio de biodegradabilidade imediata, foram obtidos os valores de CO₂ contidos na Tabela 4. O ensaio foi considerado válido pois a diferença entre os extremos das duplicadas foi menor que 20% e o padrão biodegradável (NaC₆H₅CO₂) apresentou aumento de 60% de evolução de CO₂ em 10 dias. Além disso, a amostra OV-M (OV-M 1 e OV-M 2 da TABELA 4) apresentou liberação de CO₂ superior a 25% em 14 dias de exposição, indicando que não houve inibição do crescimento dos microrganismos por parte da substância teste.

A fácil biodegradabilidade observada para o OV-M indica que, quando em contato com o meio ambiente, as bactérias, naturalmente presentes naquele local, irão biodegradar o produto e, com isso, o mesmo ficará menos biodisponível para a causar efeitos adversos para a fauna e flora local (15). A fácil biodegradabilidade e a ausência de efeitos tóxicos torna o OV-M um produto desejável para operar em locais que apresentam condições que inviabilizam ações de rápidas de remediação em caso de vazamento ou o derramamento.

TABELA 4 - Total de CO₂ (mg) liberado da substância testada (OV-M) e do benzoato de sódio (NaC₆H₅CO₂) durante 23 dias de exposição.

Dias de incubação	Liberação de CO ₂ (mg)			
	OV-M 1	OV-M 2	NaC ₆ H ₅ CO ₂ 1	NaC ₆ H ₅ CO ₂ 2
1	9,4	10,1	29,6	29,8
3	43,0	31,8	55,3	55,0
6	58,7	40,2	76,7	70,9
8	67,7	46,0	105,6	97,0
10	75,6	56,4	135,7	128,9
13	80,8	62,4	151,5	145,6
18	98,6	82,7	177,4	170,1
23	118,2	104,5	196,2	192,5

4.0 - CONCLUSÕES

O OV-M (óleo mineral extraído de microalgas) pode ser utilizado como fluido isolante em equipamentos elétricos.

O OV-M possui estabilidade a oxidação superior ao óleo Biovolt A porém inferior ao óleo com alto teor de ácido oleico (Biovolt HW).

O OV-M não apresentou causou nenhum efeito tóxico sobre os animais testados, sendo que o NOAEL obtido foi de 100.000 ppm, a maior concentração testada.

Além da não toxicidade, o OV-M apresentou biodegradação de 100% sendo, dessa forma, considerado como um produto facilmente biodegradável.

5.0 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] WILHELM, H. M., TULIO, L., UHREN, W. Produção e uso de óleos vegetais isolantes no setor elétrico. Brasil Engenharia. São Paulo - Brasil, v.592, p.120 - 124, 2009.
- [2] WILHELM, H. M., TULIO, T., JASINSKI, R., ALMEIDA, G. Aging markers for in-service natural ester-based

- insulating fluids, IEEE Trans. Dielectr. Electr. Insul., Vol. 18, No. 3, pp. 714-719, 2011.
- [3] WILHELM, H. M., STOCCO, M. B. C., TULLIO, L. Edible natural ester oils as potential insulating fluids, IEEE Trans. Dielectr. Electr. Insul., Vol. 20, No. 4, pp. 1395-1401, 2012.
- [4] WILHELM, H. M., STOCCO, G. B., BATISTA JR., S. G., In-service natural ester-based insulating fluids reclaiming: preliminary study, IEEE Trans. Dielectr. Electr. Insul., Vol. 20, No. 1, pp.128-134, 2013.
- [5] ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT NBR 15422, Óleos vegetais isolantes para equipamentos elétricos – Especificação, 2006.
- [6] BRITISH STANDARDS. BS EN 14112, Fat and oil derivatives. Fatty acid methyl esters (FAME). Determination of oxidation stability (accelerated oxidation test), 2003.
- [7] Standard Test Method for Oxidation Stability of Inhibited Mineral Insulating Oil by Pressure Vessel. ASTM D2112, 2007. Disponível em: <http://www.astm.org/Standards/D2112.htm>.
- [8] OECD Guidelines for Testing of Chemicals and Food Ingredients, Section 4 (Part 408): Health Effects, Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Rodents (1998).
- [9] UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECT AGENCY. 835.3100 - Aerobic Aquatic Biodegradation (January 1998). Disponível em: <http://www.regulations.gov/#!documentDetail;D=EPA-HQ-OPPT-2009-0152-0016>.
- [10] OECD. Ready Biodegradability (301 – part B - 301 B CO2 evolution test). Disponível em: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/1948209.pdf>.
- [11] Standard Test Method for Oxidation Stability of Mineral Insulating Oil. ASTM D2440. 2013. Disponível em: <http://www.astm.org/Standards/D2440.htm>.
- [12] KNOTHE, G., VAN GERPEN, J., KRAHL, J. The Biodiesel Handbook, AOCs Press, Champaign, Illinois, USA, pp. 302, 2005.
- [13] DOMINGOS, A. K., VECHIATTO W. D., SAAD, E. B., WILHELM, H. M., RAMOS, L. P. The Influence of BHA, BHT and TBHQ on the Oxidation Stability of Soybean Oil Ethyl Esters (Biodiesel), J. Braz. Chem. Soc., Vol. 18, No. 2, pp. 416-423, 2007.
- [14] COSTA, C. R., OLIVI, P., BOTTA, C. M. R., ESPINDOL, E. L. G. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. Química Nova, Vol. 31, No. 7, 1820-1830, 2008.
- [15] HEATH, A. G. Water Pollution and Fish Physiology. 2nd Ed ed1995: Lewis Publishers.

6.0 - DADOS BIOGRÁFICOS



Helena Maria Wilhelm nasceu em Cerro Largo, Brasil, em 1971. Graduiu-se em Química pela Universidade Federal do Paraná, em 1993. Obteve o título de mestre em Química pela Universidade Federal de Santa Catarina, em 1996, e de doutorado em Química pela Universidade Estadual de Campinas, em 2000. Atualmente atua no desenvolvimento de projetos de pesquisa e desenvolvimento no DIAGNO e leciona no curso de pós-graduação em Desenvolvimento Tecnológico nos Institutos LACTEC.

Giorgi Dal Pont nasceu em Juína, Brasil, em 1984. Possui graduação em Zootecnia pela Universidade Federal do Paraná (UFPR) em 2010 e Mestrado em Ciências Veterinárias pela UFPR em 2012. Atua nas áreas de avaliação de impactos e biomonitoramento ambiental com ênfase em ecotoxicologia aquática. Também atua na área de fisiologia com ênfase em estresse, comportamento, bem-estar de peixes de produção. Atualmente é doutorando no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da UFPR e atua como Coordenador de projetos e pesquisador no DIAGNO, contribuindo na condução de projetos de pesquisa e desenvolvimento.

Claudio Aparecido Galdeano possui graduação em Engenharia Química pela Faculdade Oswaldo Cruz, especialização em Legislação Ambiental pela USP, especialização em Manutenção pelo Núcleo de Treinamento Tecnológico. Atua na área de fluidos isolantes, meio ambiente e materiais.

Milton Marques da Silva Júnior nasceu em Campinas, Brasil, em 1966. Graduiu-se em Química pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) em 1988 e obteve o título de mestre em Química também pela UNICAMP, em 1992. Foi professor na Universidade Estadual de Maringá de 1989 a 1990. Trabalhou em empresas de *service* com materiais isolantes (óleos, papéis e etc.) e atualmente atua na área de diagnósticos preditivos em transformadores elétricos e desenvolve projetos de pesquisa na MGM com concessionárias de energia elétrica.

Luis Eduardo F. A. Ravaglia nasceu em São Paulo em 1968. Gradou-se em Engenharia Química pela Escola Politécnica – UPD em 1993. Mestre em Química Têxtil pela North Carolina State Univ, Raleigh, NC USA. MBA pela FGV-SP em 2001 e MBA com especialização em logística FDC- MG em 2004. Atualmente é consultor na área de Oleoquímicos e BioCombustíveis sendo Conselheiro da empresa Mineraltec.