



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



OBTENÇÃO DE CONCENTRADO DE ÁLCOOIS GRAXOS DE CADEIA LONGA A PARTIR DE CERA DE CANA DE AÇÚCAR SAPONIFICADA E ACIDULADA

Andréa Letícia Paixão
Engenheira de Alimentos

Prof. Dr. Daniel Barrera-Arellano
Orientador

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

Campinas – SP – Brasil

2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

P167o Paixão, Andréa Letícia
Obtenção de concentrado de álcoois graxos de cadeia longa a partir de cera de cana de açúcar saponificada e acidulada / Andréa Letícia Paixão. – 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. Purificação. 3. Ácidos graxos. 4. Álcoois graxos. I. Barrera-Arellano, Daniel. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Titulo em ingles: Production of a long chain fatty alcohol concentrate from saponified and acidulated sugarcane wax

Palavras-chave em inglês (Keywords): Sugarcane wax, Purification, Fatty acids, Fatty alcohols

Titulação: Mestre em Tecnologia de Alimentos

Banca examinadora: Daniel Barrera-Arellano

Caroline Joy Steel

Renato Grimaldi

Jane Mara Block

Data de defesa: 26-02-2008

Programa de Pós-Graduação: Programa em Tecnologia de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Daniel Barrera-Arellano (Orientador)
Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP

Prof^a. Dr^a. Caroline Joy Steel (membro)
Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP

Prof. Dr. Renato Grimaldi (membro)
Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP

Prof^a. Dr^a. Jane Mara Block (membro)
Universidade de Santa Catarina

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais **José Paixão e Vera Lucia Paixão** por todo o incentivo, compreensão, pela minha formação profissional e pessoal e pelo exemplo que são em minha vida.

Ao meu irmão **Paulo José** por torcer sempre pelo meu sucesso.

Ao meu namorado **Eduardo** que me incentivou a iniciar no mestrado, pela paciência e compreensão nos momentos difíceis.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por me guiar e me amparar em todos os momentos da minha vida.

À Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), juntamente com a Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA) e o Departamento de Tecnologia de Alimentos pela oportunidade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de Mestrado concedida.

Ao Prof. Dr. Daniel Barrera-Arellano, pela oportunidade e orientação.

Ao Laboratório de Óleos e Gorduras e aos colegas que fiz, pelo convívio e pela amizade.

À indústria, Megh - Ceras & Emulsões, pela concessão das amostras para a realização deste trabalho.

Às eternas amigas Joeni, Juliana, Joyce, Kelly e Denise, por compartilharmos conhecimentos e momentos inesquecíveis.

Aos professores da UNIMEP Izael Gressoni Junior, Marina Kobayasi e Ana Célia Ruggiero que sempre me serviram de inspiração na minha vida profissional.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	1
2. Revisão Bibliográfica.....	3
2.1 Cana-de-açúcar	3
2.2 Ceras	8
2.2.1 Classificação das ceras	10
2.2.2 Aplicações das ceras	11
2.2.3 Cera de cana-de-açúcar.....	13
2.2.3.1 Extração e purificação da cera de cana-de-açúcar.....	14
2.2.3.2 Composição da cera bruta e suas frações	19
2.2.3.3 Clarificação da cera de cana-de-açúcar.....	21
2.4 Modificação química da cera de cana-de-açúcar.....	23
2.4.1 Saponificação e acidulação	23
2.5 Componentes da cera de cana-de-açúcar	26
2.5.1 Policosanol	26
2.5.1.1 Métodos para obtenção e concentração da mistura de álcoois graxos	28
2.5.1.2 Estudos relacionados à saúde	30
2.5.2 Ácidos graxos de cadeia longa	33
2.5.2.1 Aplicações dos ácidos graxos de cadeia longa	35
2.5.2.2 Fração D-003.....	36
3. Material e Métodos.....	39

3.1 Material.....	39
3.1.1 Matéria-prima.....	39
3.1.2 Equipamentos.....	39
3.1.3 Reagentes e outros insumos	40
3.2. Métodos.....	41
3.2.1 Métodos analíticos	41
3.3 Procedimento experimental.....	45
3.3.1 Caracterização físico-química da cera de cana-de-açúcar clarificada	45
3.3.2 Modificação química da cera de cana-de-açúcar clarificada e purificada	46
3.3.2.1 Saponificação	46
3.3.2.2 Acidulação	46
3.3.3 Processos para a obtenção dos concentrados graxos.....	47
3.3.3.1 Concentração utilizando solução salina e etanol a quente.....	47
3.3.3.2 Concentração utilizando solução salina e etanol a frio.....	49
3.3.3.3 Concentração utilizando etanol a frio.....	51
3.3.3.4 Concentração utilizando água quente e etanol a frio.....	52
3.3.4 Processo de purificação do concentrado de álcoois graxos.....	53
3.3.5 Caracterização do concentrado de álcoois e ácidos graxos.....	54
4. Resultados e Discussão.....	55

4.1 Caracterização físico-química da cera de cana-de-açúcar clarificada.....	55
4.1.1 Composição em ácidos e álcoois graxos.....	57
4.2 Estudo do processo de concentração dos compostos graxos.....	60
4.2.1 Saponificação e acidulação da cera clarificada e purificada.....	60
4.2.1.1 Determinação da composição da cera saponificada e acidulada.....	60
4.2.2 Processo para obtenção dos concentrados com solução salina e etanol a quente	63
4.2.3 Processo para obtenção dos concentrados com solução salina e etanol a frio	63
4.2.4 Processo para obtenção dos concentrados com etanol a frio direto	64
4.2.5 Processo para obtenção dos concentrados com água quente e etanol a frio	65
4.2.5.1 Determinação da relação cera:água na lavagem com água quente (T° ebulição).....	65
4.2.5.2 Determinação da relação cera:álcool no processo de lavagem com etanol a frio.....	68
4.3 Purificação do concentrado de álcoois graxos	71
4.3.1 Lavagem com acetona.....	71
5. Conclusões.....	74
Referências Bibliográficas.....	75

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Composição química da cana-de-açúcar.....	4
Tabela 2. Composição típica de torta de filtro (% de matéria seca).....	7
Tabela 3. Componentes encontrados nas ceras superficiais de plantas.....	8
Tabela 4. Características das ceras purificadas de cana-de-açúcar orgânica e queimada e das ceras comerciais de carnaúba e de abelha.....	18
Tabela 5. Rendimentos em cera refinada, óleo e resina.....	19
Tabela 6. Composição em álcoois graxos (%) de diferentes amostras de ceras de cana-de-açúcar.....	27
Tabela 7. Teor de octacosanol (%) em diferentes amostras de cana-de-açúcar.....	27
Tabela 8. Composição em ácidos graxos esterificados de cera de cana-de-açúcar e ceras comerciais.....	34
Tabela 9. Relações cera:água e temperaturas de concentração utilizadas no processo.....	53
Tabela 10. Características físico-químicas da cera de cana de açúcar clarificada.....	55
Tabela 11. Composição em ácidos graxos (%) da cera de cana-de-açúcar clarificada e purificada.....	58
Tabela 12. Composição em álcoois graxos (%) de cera cana-de-açúcar clarificada e purificada.....	58
Tabela 13. Teores de álcoois graxos no concentrado a partir das relações cera:água.....	66
Tabela 14. Teores de álcoois graxos no concentrado a partir das relações cera:etanol.....	68
Tabela 15. Teores de álcoois graxos no produto purificado obtido com acetona.....	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura básica de um éster de cera.....	10
Figura 2. Fluxograma do processo de concentração de álcoois graxos utilizando solução salina e etanol a quente a partir de cera saponificada/acidulada de cana-de-açúcar.....	48
Figura 3. Fluxograma do processo de concentração de álcoois graxos utilizando solução salina e etanol a frio a partir de cera saponificada/acidulada de cana-de-açúcar.....	50
Figura 4. Fluxograma do processo de concentração de álcoois graxos utilizando etanol a frio a partir de cera saponificada/acidulada de cana-de-açúcar.....	51
Figura 5. Fluxograma do processo de concentração de álcoois graxos utilizando água quente e etanol a quente a partir de cera saponificada/acidulada de cana-de-açúcar.....	52
Figura 6. Cromatograma dos ácidos e álcoois graxos da cera de cana-de-açúcar clarificada e purificada.....	57
Figura 7. Curva de calibração construída para a quantificação dos álcoois presentes nas amostras de cera de cana-de-açúcar.....	61
Figura 8. Cromatograma da cera de cana-de-açúcar saponificada e acidulada.....	62
Figura 9. Cromatograma do concentrado de álcoois graxos da cera lavada com água quente.....	67
Figura 10. Cromatograma dos concentrado de álcoois graxos da cera lavada com água quente e etanol a frio.....	69
Figura 11. Cromatograma do concentrado de ácidos graxos da cera lavada com água quente e etanol a frio.....	70
Figura 12. Cromatograma do concentrado de álcoois graxos da cera após lavagem com acetona.....	72

RESUMO

O Brasil, por ser o maior produtor de cana-de-açúcar e o maior exportador de açúcar do mundo, representa um pólo de crescimento para a produção de cera de cana-de-açúcar. Esta cera é obtida a partir da torta de filtro, um subproduto da indústria sucro-alcooleira. A partir da cera é possível se obter concentrados de álcoois e ácidos graxos de cadeia longa, compostos utilizados em diversas aplicações como, por exemplo, em áreas relacionadas à saúde humana. O objetivo deste trabalho foi estudar processos de obtenção do concentrado de álcoois graxos presente na cera de cana-de-açúcar purificada e clarificada a partir dos processos de saponificação, acidulação e lavagem do produto com etanol. O concentrado de álcoois graxos com 68% de pureza foi conseguido através da lavagem da cera saponificada e acidulada, inicialmente com água quente e, em seguida com etanol a frio. A partir da purificação com acetona, o teor dos álcoois graxos chegou a 88%. O produto atual no mercado apresenta uma pureza de 90% e, portanto, comparando os resultados obtidos, pode-se concluir que o processo de concentração do álcool graxo foi eficiente.

Palavras-chave: cera de cana-de-açúcar, purificação, ácidos graxos, álcoois graxos.

ABSTRACT

Brazil, being the world's greatest sugarcane producer and sugar exporter, represents a potential center for the production of sugarcane wax. This wax is obtained from the filter cakes, a sub-product of the sugar and alcohol industry. From the wax, it is possible to obtain concentrates of long chain fatty alcohols and fatty acids, compounds used in several applications related to human health. The objective of this work was to study different processes to obtain a concentrate of the fatty alcohols present in purified and clarified sugarcane wax, through saponification, acidulation and washing of the product with ethanol. A 68% purity fatty alcohol concentrate was produced by washing the saponified and acidulated wax, initially with hot water and then with cold ethanol. Through purification with acetone, the percentage of fatty alcohols reached 88%. The product currently available in the market presents a purity of 90% and, therefore, comparing the results obtained, it can be concluded that the fatty alcohol concentration process was efficient.

Key words: sugarcane wax, purification, fatty acids, fatty alcohols.

1. Introdução

No Brasil, a cana-de-açúcar é considerada uma importante cultura agrícola, devido à extensa área que seu cultivo ocupa, principalmente em regiões tropicais e temperadas (CARVALHO, 1998).

Além da importância nas indústrias de açúcar e álcool, esta gramínea constitui base de produção de matérias-primas como bagaço, torta, melaço e resíduos da colheita (LUTZ et al., 1998). Segundo Gandra (2006), a utilização dos produtos e subprodutos da cana permite um desenvolvimento industrial 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.

A cera de cana-de-açúcar, definida como um subproduto da indústria sucro-alcooleira, vem ganhando, nos últimos anos, interesse nas mais diversas áreas (indústrias têxtil, alimentícia, química, farmacêutica, na medicina, na fabricação de cosméticos, na indústria de papel e embalagens, na produção de tintas e no setor de polimento, na restauração de pinturas em telas e modelagem). Além da sua aplicação técnica como alternativa para as ceras de carnaúba, de abelha e sintéticas, sua composição química também favorece sua aplicação (TAYLOR, 2000).

As ceras podem ser constituídas por uma ampla gama de diferentes classes de lipídios, dentre eles estão os álcoois e ácidos graxos livres de cadeia longa (CHRISTIE, 1982; WARTH, 1947; LI & PARISH, 1998), podendo ser utilizada como matéria-prima pela indústria farmacêutica. As características físicas de dureza, coesão e alto ponto de fusão fazem da cera de cana-de-açúcar um material interessante quando se requer uma cera de precisão para modelagem e endurecimento de outros tipos de ceras vegetais (FRUTUOSO, 1989).

A partir da cera-de-cana de açúcar podem ser obtidas frações de ácidos graxos (D-003) e álcoois graxos (policosanol), as quais possuem diversos efeitos fisiológicos.

A fração D-003 é definida como mistura de ácidos graxos saturados de cadeia longa, isolados e purificados da cera de cana-de-açúcar. Estudos desenvolvidos ainda em animais, demonstram o efeito da fração D-003 sob diversos aspectos relacionados a saúde, como: diminuição do colesterol; proteção contra a oxidação das lipoproteínas do plasma; efeito anti-trombótico e anti-plaquetário. (ARRUZAZABALA, 2004; CARBAJAL, 2004; RODRIGUEZ, 2003; MOLINA, 2002).

O policosanol é definido como uma mistura de álcoois de alto peso molecular, variando de 24 a 34 átomos de carbono, isolados e purificados da cera de cana-de-açúcar, que atua como agente anti-plaquetário, anti-isquêmico, anti-trombótico e redutor de colesterol (ROSARIO, 2006).

Objetivo Geral:

O presente trabalho teve como objetivo estudar os processos para a obtenção de concentrado de ácidos e álcoois graxos a partir de cera purificada de cana-de-açúcar, envolvendo as etapas de saponificação, acidulação, concentração e purificação.

Objetivos Específicos

- Caracterização da cera de cana-de-açúcar clarificada e purificada.
- Desenvolvimento de um processo para obtenção de concentrados de ácidos graxos e álcoois graxos de cadeia longa (de concentração próxima a 50% e 90%).

2. Revisão Bibliográfica

2.1 Cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é formada por caule (colmo), raízes, folhas e flores. Cresce em touceiras de quatro até vinte colmos, cada um com diâmetro de dois até oito centímetros, e atingindo até seis metros de altura (MARTUCHI, 1983). É uma planta da família das gramíneas e pertence ao gênero *Saccharum*, com grande número de variedades.

Os cultivos iniciais da cana-de-açúcar foram dominados por um híbrido natural de *S. barbieri*, *S. officinarum*, *S. spontaneum* e *S. sinense*, que possuíam boa resistência. Esta variedade foi considerada resistente a doenças e pragas, rica em sacarose e adaptada às condições de solo e clima (LEME JUNIOR & BORGES, 1965) e então, cultivada para uso industrial e descrita como *Saccharum officinarum*.

O descobrimento da América permitiu extraordinária expansão das áreas de cultura da cana. As primeiras mudas chegaram ao Brasil em 1502, e, já em 1550, numerosos engenhos espalhados pelo litoral produziam açúcar de qualidade equivalente ao produzido pela Índia. Incentivado o cultivo da cana pela Metrópole, com isenção do imposto de exportação e outras regalias, o Brasil tornou-se, em meados do século XVII, o maior produtor de açúcar de cana do mundo. Perdeu essa posição durante muitas décadas, mas na década de 1970, com o início da produção de álcool combustível, voltou a ser o maior produtor mundial (GEOCITIES, 2006).

Desde os tempos do Brasil colônia até os dias de hoje, a cultura de cana-de-açúcar tem sido uma fonte de riquezas para a economia brasileira (FNP CONSULTORIA & AGRO-INFORMATIVO, 2003). Em 2006, a produção de cana-

de-açúcar atingiu 455 milhões de toneladas e espera-se para 2007 uma safra de 513 milhões (IBGE, 2006).

No Brasil, a cana-de-açúcar é considerada uma importante cultura agrícola, devido à extensa área que seu cultivo ocupa (cultivada em aproximadamente seis milhões de hectares), principalmente em regiões tropicais e temperadas, contribuindo para a alimentação humana e animal, e devido também à geração de empregos em função da existência do complexo industrial (CARVALHO, 1998). Planta-se cana no Centro-Sul e no Norte-Nordeste, o que permite dois períodos de safra, sendo produzida, portanto, o ano todo. Dependendo do momento de plantio, a cana demora de ano a ano e meio para ser colhida e processada pela primeira vez. Segundo Martuchi (1983), citado por Rosario (2006), a composição da cana abrange diversos compostos, entre eles água e açúcares. A Tabela 1 ilustra os principais componentes presentes na cana.

Tabela 1. Composição química da cana-de-açúcar

Compostos	Teor (%)
Água	65 – 75
Fibras	4 – 14
Açúcares	12 – 18
Cinzas	0,4 – 0,8
Matéria nitrogenada	0,3 – 0,6
Lipídios totais	0,15 – 0,25
Substâncias pécticas, gomas e mucilagens	0,15 – 0,25
Ácidos combinados	0,10 – 0,15
Ácidos livres	0,06 – 0,10
Matéria corante	Não dosadas

Fonte: MARTUCHI (1983), citado por ROSARIO (2006).

Dentre os 130 países produtores de cana de açúcar, o Brasil é o maior produtor, seguido por Índia e Austrália e, considerado o maior exportador mundial de açúcar. Na média, 55% da cana brasileira vira álcool e 45%, açúcar (CARVALHO, 1998). A cana é a principal fonte de energia para as 307 centrais energéticas existentes no Brasil, 128 das quais estão em São Paulo (PORTAL UNICA, 2006).

Segundo Paturau (1998) e Beeharry (2006), a cana-de-açúcar, bem como a utilização de seu bagaço e resíduos, tem importância considerável para a geração de energia, o que oferece a oportunidade para o desenvolvimento de pesquisas e aplicação de energia renovável, diminuindo a dependência dos países na importação de combustível e, até mesmo, reduzindo a emissão de gases e o efeito estufa.

Segundo o Banco de Dados de Biomassa (2006), o Proálcool, Programa Nacional do Álcool, é o maior programa comercial de utilização de biomassa para produção de energia no mundo. Representou a iniciativa de maior sucesso mundial, na substituição de derivados de petróleo no setor automotivo, mediante o uso do álcool como combustível único nos veículos movidos à álcool hidratado. O álcool também tem seu reconhecimento na comunidade internacional como uma das possíveis soluções para os problemas ambientais, destacando-se como um dos melhores candidatos a ser apoiados com políticas de financiamento.

Desde a implantação do setor sucroalcooleiro e, em maior escala, a partir da metade do século XX, as indústrias deste setor desenvolveram instalações próprias de geração elétrica, seja através de pequenos aproveitamentos hidrelétricos, óleo diesel, e depois, face à indisponibilidade de energia elétrica e aos seus custos, adotaram sistemas de geração, em processo de cogeração, ajustados às necessidades do processamento industrial da cana de açúcar, utilizando o bagaço. Como a quantidade de bagaço produzida é muito elevada

(aproximadamente 30% da cana moída), existe um grande potencial para geração de eletricidade para venda comercial e, de acordo com vários estudos realizados, o potencial de geração de eletricidade a partir de bagaço de cana no Brasil está estimado em aproximadamente 4.000 MW com tecnologias comercialmente disponíveis (BANCO DE DADOS DE BIOMASSA, 2006).

Além da importância nas indústrias de açúcar e álcool, esta gramínea constitui base para produção de matérias-primas como bagaço, torta, melaço e resíduos da colheita (LUTZ et al., 1998). Segundo Gandra (2006), a utilização dos produtos e subprodutos da cana permite um desenvolvimento industrial 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.

A torta de filtro, por exemplo, é um subproduto resultante do processamento de açúcar e álcool, que compreende as etapas iniciais de extração e purificação do caldo de cana-de-açúcar. Os processos básicos de purificação são o peneiramento do caldo, para a remoção de impurezas grosseiras em suspensão, como areia, argila e bagaço, e a clarificação, com o objetivo de remover impurezas solúveis que ainda permanecem no caldo (PULZATTO, 1995). Após o processo de clarificação, ocorrem etapas de coagulação, floculação e precipitação máxima dos colóides formados, que são eliminados por sedimentação e filtração e, o lodo obtido na decantação é filtrado (em filtros do tipo tambor rotativo a vácuo ou filtros-prensa) resultando em um subproduto denominado torta de filtro ou bagacilho (COSTA, 2002).

Geralmente esta torta de filtro é descartada ou utilizada como fertilizante (LEME Jr. & BORGES, 1965; PATURAU, 1969; LUTZ et al., 1998; MELCHANG et al., 2004), porém, se adotadas as técnicas de aproveitamento dos sub-produtos, esta torta de filtro pode, além de diminuir o descarte de resíduos, ganhar um

destino mais nobre e gerar lucros adicionais para o setor, como por exemplo, ser utilizada para a obtenção de cera de cana-de-açúcar, um produto de alto valor agregado, que possui grande potencial, considerando o índice de extração da cera (0,0725%) sobre a quantidade de cana processada (PATURAU, 1969; VIEIRA, 2003; ROSARIO, 2006). Além disso, a remoção da cera das tortas de filtro facilitaria a absorção de nutrientes pelas plantas, pois a decomposição do material orgânico ocorreria em menor tempo (ADAMENAS, 1982).

A Tabela 2 apresenta os componentes normalmente presentes em tortas de filtro de cana-de-açúcar, que podem variar segundo o processo de moagem, métodos de clarificação e filtração empregados, variedade da cana e safra.

Tabela 2. Composição típica de torta de filtro (% de matéria seca)

Compostos	Teor (%)
Lipídios totais	5-14
Fibras	15-30
Açúcares	5-15
Proteína	5-15
Cinzas totais	9-20
SiO ₂	4-10
CaO	1-4
P ₂ O ₅	1-3
MgO	0,5-1,5

Fonte: PATURAU (1969).

Além da utilização da torta de filtro, pode-se ainda obter do bagaço diversos tipos de papéis, fármacos e produtos como o furfural, de alta reatividade, para a síntese de compostos orgânicos, com grande número de aplicações na indústria química e farmacêutica (GARCÍA et al., 1999, citado por GANDRA, 2006).

2.2 Ceras

De acordo com Vieira (2003), o termo cera é normalmente usado como referência a uma mistura de compostos apolares de cadeia longa, encontrados na superfície de plantas e animais. As ceras da superfície de plantas são lipídios funcionais, que exercem papel importante na preservação do balanço de água da planta através da redução da evaporação na superfície, servindo como uma barreira à passagem de água contida nas células. Também têm função de proteção contra danos causados por microorganismos, insetos e outros elementos. A quantidade de cera produzida por uma planta depende das condições de crescimento e a sua composição é menos afetada por fatores ambientais (LI & PARISH, 1998; DOMÍNGUES & HEREDIA, 1998). A Tabela 3 apresenta os principais componentes encontrados nas ceras presentes nas superfícies de plantas.

Tabela 3. Componentes encontrados nas ceras superficiais de plantas

Componente	Estrutura	No. de carbonos
n-Alcanos	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_x\text{CH}_3$	21 a 35C – número ímpar
Alquil ésteres	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_x\text{COO}(\text{CH}_2)_y\text{CH}_3$	34 a 62C – número par
Ácidos graxos	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_x\text{COOH}$	16 a 32C – número par
Álcoois graxos (primários)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_y\text{CH}_2\text{OH}$	22 a 32C – número par
Aldeídos	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_y\text{CHO}$	22 a 32C – número par
Cetonas	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_x\text{CO}(\text{CH}_2)_y\text{CH}_3$	23 a 33C – número ímpar
Álcoois graxos (secundários)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_x\text{CHOH}(\text{CH}_2)_y\text{CH}_3$	23 a 33C – número ímpar
β-Dicetonas	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_x\text{COCH}_2\text{CO}(\text{CH}_2)_y\text{CH}_3$	27 a 33C – número ímpar
Triterpenóides	Esteróis, <i>alpha</i> -amirina, <i>beta</i> -amirina, uvaol, lupeol, eritrodiol	
Ácidos triterpenóicos	Ácido ursólico, ácido oleanólico, etc.	

Fonte: CHRISTIE, 2003.

Segundo Domínguez & Heredia (1998), a palavra cera, *wax* em inglês, é derivada do termo anglo-saxão *weax*, utilizado para descrever o material proveniente dos favos de mel. Atualmente, o termo cera é usado na denominação de várias substâncias sólidas encontradas na natureza ou de componentes isolados desses produtos, cuja aparência ou propriedades são similares às de ceras naturais como a de abelha, comprovando que as similaridades entre diferentes ceras não são baseadas em sua composição, fonte, ou método de obtenção (VIEIRA, 2003).

Segundo Christie (2003), a composição química, bem como o comprimento, o grau de insaturação e de ramificação dos constituintes alifáticos, variam com a fonte ou procedência das ceras.

As ceras podem ser constituídas por uma ampla gama de diferentes classes de lipídios, incluindo ésteres de cera, esteróis e ésteres de esteróis, álcoois e ácidos graxos livres, hidrocarbonetos, cetonas, aldeídos, bem como lipídios mais simples como os triacilglicerídios (CHRISTIE, 1982; WARTH, 1947; LI & PARISH, 1998). Em uma definição mais específica, cera é o éster de um ácido graxo de cadeia longa com um álcool graxo também de cadeia longa (PERKINS, 1993; O'KEEFE, 1998; LI & PARISH, 1998; BERNASCONI, 2006).

Segundo Gunstone (1986), os ésteres são os mais importantes constituintes das ceras naturais, sendo produtos da reação de um álcool e um ácido, com eliminação de uma molécula de água. Possuem cadeias longas e número par de átomos de carbono. Ainda de acordo com o mesmo autor, ácidos graxos de cadeia longa, na forma livre ou combinada, são importantes constituintes de ceras de origem animal ou vegetal. Nas ceras de plantas, estes ácidos são em geral saturados e possuem comprimento de cadeia similar ao dos álcoois presentes. A Figura 1 ilustra a estrutura básica de um éster de cera.

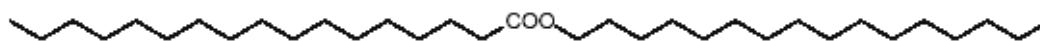


Figura 1. Estrutura básica de um éster de cera

Warth (1947), relata que os álcoois graxos livres ou esterificados encontram-se amplamente distribuídos nas ceras e possuem de 20 a 40 átomos de carbono. O mesmo autor também relata que os esteróis constituem um grupo de compostos com uma ampla faixa de atividade biológica. São álcoois policíclicos que freqüentemente acompanham os óleos e as gorduras e, em menor extensão, as ceras. Podem ser classificados conforme sua origem em esteróis de animais (zoosterol) ou esteróis de plantas (fitosteróis) e, dentre os fitosteróis, os mais importantes são o stigmasterol, o β -sitosterol e o campesterol.

Por fim, os hidrocarbonetos de particular interesse são os saturados, possuindo de 14 a 44 átomos de carbono, aparecendo como os principais constituintes de muitas ceras, sendo considerados por exemplo, os principais componentes das ceras de petróleo (CHRISTIE, 2003).

2.2.1 Classificação das ceras

De acordo com Rosário (2006), as ceras podem ser classificadas de acordo com a origem ou a fonte, propriedades químicas, físicas e aplicações industriais. Normalmente, a primeira diferenciação realizada é segundo sua origem, sendo classificadas em naturais ou sintéticas.

As ceras naturais podem ser classificadas em vegetais, animais e minerais. Muitos organismos animais e determinadas plantas produzem ceras com

composição extremamente complexa. Há animais, principalmente insetos, que secretam ceras através de glândulas, e plantas que produzem ceras em pequenas quantidades em seus tecidos, pólen, sementes, e em grande quantidade nas folhas, caules ou frutos (MUNÕZ, 2005). Entre as ceras animais, podem ser incluídas a lanolina e a cera de abelha e, entre as ceras vegetais, podemos encontrar a cera de carnaúba, candelilla, jojoba, arroz e girassol.

As ceras minerais foram formadas nos primeiros períodos geológicos, sendo conhecidas como “*ceras fósseis*” e classificadas em ceras derivadas do petróleo, lignito (cera de Montana) e ozocerite. A parafina é a mais importante cera mineral (LI & PARISH, 1998).

As ceras sintéticas possuem como matéria-prima de partida compostos de baixo peso molecular em que os produtos podem ser ceras no sentido mais estrito da definição ou substâncias com composição similar às ceras. Além disso, ceras naturais ou materiais similares podem ser modificados por reação química, como a esterificação, a amidação ou a neutralização de ceras ácidas, para se obter ceras parcialmente sintéticas (MUÑOZ, 2005). As ceras de polietileno e polipropileno são exemplos típicos de ceras sintéticas (LI & PARISH, 1998).

2.2.2 Aplicações de ceras

As ceras naturais dividem o mercado com as ceras sintéticas derivadas do petróleo, mas a qualidade das ceras naturais ainda é considerada insuperável (VIEIRA, 2003).

Segundo Adamenas (1982); Muñoz (2005) e Rosário (2006), as ceras naturais são amplamente utilizadas em todas as áreas de aplicação industrial como componentes de produtos para polimento (de pisos, sapatos, automóveis,

etc.); produtos para proteção de couro; na indústria de papel e embalagens; na produção de tintas, vernizes e lubrificantes; na produção de filmes contínuos resistentes; na indústria cosmética (batons, esmaltes), alimentícia (chicletes, chocolates, frutas) e também na indústria farmacêutica como veículo e excipiente.

Nas indústrias do setor alimentício, as ceras são utilizadas como material de revestimento com função de proteção, por exemplo em queijos e frutas, e também na elaboração de biofilmes e emulsões (GREENER-DONHOWE & FENNEMA, 1993), com o objetivo de retardar a deterioração de algumas frutas cítricas, por serem inertes e apresentarem propriedades de dispersibilidade. Emulsões do tipo cera em água podem ser mais estáveis que emulsões tipo óleo em água, devido ao alto peso específico da cera (HERNADEZ & BAKER, 1991). Jacomino et al. (2003) avaliaram os efeitos de ceras à base de carnaúba na conservação pós-colheita de goiabas sob condição ambiente. As ceras foram eficientes em retardar o amadurecimento, reduzir a incidência de podridões e a perda de massa, além de conferir maior brilho à casca da fruta. Weller et al. (1998) também estudaram a utilização de cera de carnaúba na fabricação de filmes protéicos e o produto resultante apresentou melhores propriedades de barreira ao vapor e à extensão do filme, além do produto resultante ser considerado comestível e biodegradável.

É importante ressaltar que, em vários países, o uso de ceras naturais em diferentes produtos é permitido por órgãos como o FDA (Food and Drug Administration) ou equivalentes (MATTHIES, 2001).

Na indústria farmacêutica, as ceras, como as de arroz, carnaúba, abelha, cana-de-açúcar e gérmen de trigo, também são amplamente aplicadas por apresentarem em sua composição ácidos e álcoois graxos de cadeia longa, de 16 a 34 carbonos e 24 a 36 carbonos, respectivamente. A mistura de ácidos graxos de cadeia longa isolados da cera de cana-de-açúcar é chamada de fração D-003.

Estudos desenvolvidos por Arruzazabala (2004) mostram a eficácia dessa fração sob diversos aspectos relacionados à saúde, como: diminuição do colesterol; proteção contra a oxidação das lipoproteínas do plasma e, efeito anti-trombótico. A mistura de álcoois graxos de cadeia longa é chamada policosanol, e sua administração oral tem apresentado efeito hipocolesterolêmico em vários estudos (STUCHLIK & ZAK, 2002).

Hamilton (1995) relata que as ceras comerciais podem ser caracterizadas por uma série de propriedades como cor, índice de acidez, índice de saponificação, índice de éster, ponto de fusão e penetração, sendo as análises de pontos de fusão e amolecimento, parâmetros importantes para a definição da aplicação de ceras.

2.2.3 Cera de cana-de-açúcar

Cera de cana é um termo geral usado para designar os lipídios contidos na cana-de-açúcar, que representam, aproximadamente, 0,18% do peso da planta (PATURAU, 1969; AZZAM, 1986), e encontram-se distribuídos da seguinte maneira, em porcentagem de peso da planta: colmo (0,38), raízes (0,54) e folhas (0,69) (FRUTUOSO, 1989).

A cera forma-se em depósitos, principalmente perto dos nós e das bainhas foliares da planta, tem a função de proteção contra a perda de água por evaporação e representa uma pequena proporção em peso na planta (cerca de 0,12%) (PATURAU, 1969).

A cera de cana-de-açúcar é obtida a partir da torta de filtro (que concentra 95% do material lipídico presente no caldo) (LAGUNA GRANJA et al., 1996) e

consiste em uma mistura de ésteres de cera, ácidos graxos livres, álcoois graxos livres e triglicerídios (VIEIRA, 2003).

A cera de cana tem despertado grande interesse, tanto pela aplicação industrial, como pela composição química (LAGUNA GRANJA et al., 1996). Sua dureza, coesão e alto ponto de fusão, fazem dela um material interessante quando se requer uma cera de precisão para modelagem, endurecimento de outros tipos de ceras vegetais e outras aplicações como: cosméticos, polimentos para piso, emulsões para preservação de frutas, vegetais e queijo, tintas para papel carbono e vernizes (FRUTUOSO, 1989).

A cera, extraída a partir de tortas de filtro de cana nas usinas açucareiras, teria as vantagens de atender aos critérios de qualidade exigidos para o seu uso industrial, e de ser proveniente de uma matéria-prima bem definida: a cana-de-açúcar, por meio de um processo industrial perfeitamente monitorado, porém não há atualmente produtores ou fornecedores de cera de cana-de-açúcar no Brasil (GRAILLE et al., 2003).

2.2.3.1 Extração e purificação da cera de cana-de-açúcar

Quando a cana-de-açúcar é moída, 40% do material lipídico é arrastado como impureza e permanece em suspensão no caldo, concentrando-se na torta de filtro (ADAMENAS, 1982; PATURAU, 1969) e, através da extração com solvente pode-se recuperar a cera contida na torta de filtro, juntamente com os lipídios totais presentes (PATURAU, 1969).

Segundo Adamenas (1982), os solventes utilizados para extrair a cera das tortas de filtro podem ser: benzeno, hexano, álcool metílico e etílico, mistura de éter etílico e etanol, acetona e solventes de petróleo. Para selecionar o melhor

solvente deve-se levar em consideração propriedades como ponto de ebulição e de fusão da cera, taxa de evaporação, bem como o custo do processo e o rendimento em cera. O mesmo autor relata ainda que, tortas de filtro com umidade residual de aproximadamente 2%, apresentam melhores resultados de rendimento do processo de extração, pois nestas condições, há boa circulação do solvente, que age com rapidez e eficiência.

De acordo com Villar et al. (2005), o rendimento da extração depende dos procedimentos utilizados, como por exemplo: tipo de solvente, temperatura, tempo de extração e relação entre solvente e soluto.

Dois processos podem ser empregados para a extração de cera bruta a partir da torta de filtro, o processo sólido-líquido e o líquido-líquido (PATURAU, 1969). No primeiro processo, citado utiliza-se torta de filtro com umidade residual de 12-15% e, no segundo processo, a torta de filtro apresenta umidade de 85% e o contato com o solvente é em contra-corrente (GARCIA, 1988).

Em trabalhos realizados anteriormente, pode-se constatar a eficiência da utilização de alguns solventes como: tolueno, naftaleno, gasolina e álcool refinado (AZZAM, 1984); hexano, tolueno, clorofórmio, acetato de etila, acetona e metanol, obtendo rendimentos em cera bruta de 8,3%, utilizando hexano, e 20,1%, utilizando metanol (BUTTAR et al., 1999); ciclohexano em equipamento tipo Soxhlet, durante um período de 20 horas, obtendo rendimento de 7% em cera bruta (NUISSIER et al., 2002); éter de petróleo, tolueno e tricloroetileno, em equipamento tipo Soxhlet, durante um período de 4 horas, obtendo rendimentos de 4,7% utilizando tricloroetileno, 4,2% utilizando tolueno e 3,7% utilizando éter de petróleo (GARCÍA et al., 2003).

Vieira (2003) utilizou como solventes n-hexano, ciclo hexano, isopropanol e etanol para extrair cera a partir de tortas de filtro de cana orgânica e queimada

(8,6% e 4% de umidade, respectivamente) e, verificou que o rendimento em cera obtido com a utilização do n-hexano ou do ciclohexano na extração foi superior aos rendimentos obtidos a partir da extração com isopropanol ou etanol, porém o n-hexano foi selecionado como solvente de extração, por não apresentar o inconveniente da forte coloração verde da cera obtida com ciclohexano. Os rendimentos obtidos foram de 7,1% e 4,3% em cera bruta, para cera orgânica e queimada, respectivamente.

Estudos com solvente n-heptano também foram relatados. Villar et al. (2005) utilizaram um tanque com agitação, empregando um sistema de duplo estágio em contracorrente. A torta de filtro apresentava 75% de umidade e teor de cera de 8,9% e, o rendimento em cera bruta variou de 4 a 7,3%.

Gandra (2006) estudou o processo de extração da cera bruta, procedente das torta de filtro de cana orgânica e de cana mista, realizada com solvente hexano em extrator tipo Soxhlet Piloto. O processo tinha duração de 8 horas (8 ciclos de refluxo) e, após a extração, a miscela foi concentrada a vácuo em evaporador rotativo e aquecida em estufa com circulação de ar (55-60°C), por 6 horas, para a eliminação do solvente residual. Pode-se observar que o rendimento da extração foi influenciado pela origem da torta de filtro de cana-de-açúcar, sendo o maior rendimento em cera bruta (7%) obtido com torta de filtro de cana orgânica.

O processo de refino (ou purificação) tem como objetivo auxiliar na eliminação da coloração escura, além de eliminar também material graxo, resinas e algumas impurezas, que conferem propriedades indesejáveis à cera bruta, como: caráter viscoso, consistência pegajosa e baixo ponto de fusão (BALCH, 1953; FRUTUOSO, 1989; GARCÍA et al., 1999). Este processo pode ser realizado através de métodos como destilação a vácuo e cristalização fracionada com solventes (PATURAU, 1969).

De acordo com Frutuoso (1989), tais processos consistem em dissolver a cera em solvente orgânico, dissolvendo a fração óleo e precipitando a fração resinosa. Filtra-se a suspensão formada e a parte sólida é misturada com mais solvente e aquecida. Separa-se então a resina da cera pelo processo de decantação.

Segundo García (1988), alguns solventes como isopropanol, etanol, acetona ou heptano foram utilizados em processos de refino, desenvolvidos na década de 60 em Cuba, em que os processos eram baseados na separação da cera bruta em frações denominadas fração oleosa, cera dura e resina. Nos anos 80, o processo se modernizou e utilizavam-se sistemas contínuos com etanol absoluto, centrífuga decantadora para extração da fração oleosa, coluna de pratos vibratórios pressurizada para a separação da cera dura e da resina e destilador molecular para obtenção de frações mais nobres e com usos mais específicos.

Estudos com outros solventes como metil-etil-cetona, álcool etílico, metanol, benzeno, acetato de etila, butanol e furfural também foram relatados (WARTH, 1947; PATURAU, 1969; GARCÍA et al., 1988 e FRUTUOSO, 1989).

Phukan e Boruah (1999) relataram estudo em que a cera, extraída com tetracloreto de carbono, era dissolvida em isopropanol, filtrada para eliminação da porção de resina e, resfriada para a precipitação da fração de cera dura. Os autores obtiveram rendimentos de 3,5 a 4,8%.

Segundo García et al. (1999), pode-se extrair a cera de cana da torta de filtro com heptano ou naftaleno. Após a extração e evaporação do solvente, a cera bruta é triturada e dissolvida em etanol a frio, em um tanque com agitação. O óleo é solúvel em etanol a frio, enquanto que a cera e a resina precipitam. A cera e a resina, com um conteúdo de solvente, passam da centrífuga-decantadora à coluna de extração contínua de pratos vibratórios e então, a cera separa-se da resina por

vazamento, se concentra em um evaporador rotativo e, pela parte inferior da coluna, retira-se a resina.

Estudos desenvolvidos por Vieira (2003), relatam a purificação da cera bruta por cristalização fracionada com n-hexano, em processo a quente. A solução obtida foi resfriada a 10°C durante 1 hora e centrifugada e o precipitado foi lavado com acetona e separado por filtração sob vácuo. As amostras obtidas apresentaram coloração amarela e índices analíticos comparáveis às ceras de carnaúba e de abelha, como pode ser observado na Tabela 4.

Tabela 4. Características das ceras purificadas de cana-de-açúcar orgânica e queimada e das ceras comerciais de carnaúba e de abelha

Parâmetros	Cana orgânica	Cana queimada	Cera carnaúba	Cera abelha
Índice de Acidez (mg KOH/ g)	20,54	17,23	13,09	22,28
Índice de Saponificação (mg KOH/ g)	77,85	76,50	72,32	75,60
Índice de Iodo – Wijs (mg I ₂ /100 g)	12,56	10,20	10,35	6,53
Matéria Insaponificável (%)	55,60	57,40	54,80	53,23
Tocoferol (α-tocoferol) (mg/ Kg)	-	-	16,54	-
Clorofila (mg/ Kg)	-	-	-	-
Fósforo (830 nm) (mg/ Kg)	10,71	9,87	6,54	-

Fonte: VIEIRA (2003).

Gandra (2006) estudou dois métodos de purificação conduzidos em escala laboratorial com amostras de cera bruta proveniente de cana orgânica e de cana mista: o método de álcool a frio e o método de álcool a quente. O primeiro método consistiu em dissolver a amostra em etanol anidro (cera:solvente 1:4 p/v) e manter o sistema sob agitação constante à temperatura de 10°C por 30 minutos.

A mistura obtida foi centrifugada para a separação das frações insolúveis e, o material decantado juntamente com etanol anidro foi aquecido sob refluxo por 15 minutos. A cera dura decantou e a fase superior foi caracterizada como cera purificada mais solvente, que foi evaporado em seguida. Obteve-se então as seguintes frações: óleo, cera purificada e cera dura (resina). O método de etanol a quente, consistiu apenas na segunda parte do método citado acima (etanol a frio), obtendo-se apenas duas frações denominadas cera mole (cera purificada mais óleo) e cera dura (resina). Estes ensaios permitiram a obtenção de frações de melhor qualidade tecnológica que as ceras brutas.

2.2.3.2 Composição da cera bruta e de suas frações

A cera purificada, o óleo e a resina compõem as três frações da cera bruta extraída da torta. A Tabela 5 mostra os rendimentos em cera purificada, óleo e resina, obtidos em estudos desenvolvidos por cinco autores.

Tabela 5. Rendimentos em cera refinada, óleo e resina

Frações	1	2	3	4
Cera purificada	30-40%	45%	40%	50-55%
Óleo	25-30%	35%	40%	30-35%
Resina	28-32%	20%	20%	15-20%

Fonte: 1- GARCIA (1988)

2- FRUTUOSO (1989)

3- MINAZ (1980) e ICIDCA (1999)

4 - MANOHAR RAO (1997).

De acordo com Minaz (1980) e Icidca (1999), a cera purificada é a fração solúvel em acetona a 100°C e em isopropanol a 80°C. Tal como é extraída a partir da torta de filtro, a cera bruta é um sólido ceroso mole de cor escura e com um odor característico. Já 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 (FRUTUOSO, 1989). De acordo com McCloud (1948), citado por Balch (1953) e Rosario (2006), as porcentagens dos componentes presentes na cera purificada são 66% de ésteres, 27% de ácidos livres, 5% de álcoois livres e 2% de hidrocarbonetos. O ponto de fusão é aproximadamente 79°C, o índice de saponificação varia de 65 a 77 mg KOH/g, o índice de acidez de 23 a 28 mg KOH/g e o índice de iodo de 13 a 29 mg I₂/100 mg. Segundo García et al. (1999), a cera purificada apresenta cor marrom, ponto de fusão entre 77-78°C, índice de acidez de 25-40 mg KOH/g, índice de saponificação de 90-100 mg KOH/g e índice de iodo de 20-30 mg I₂/100 mg.

Valix (2004) estudou a composição da cera bruta de cana-de-açúcar após extração com solvente naftaleno. Os resultados das análises mostraram que a cera bruta é composta por 5,9-8,5% de ésteres de cera, 1,6-3,2% de aldeídos e cetonas, 0-1,6% de triacilglicerídeos, 7,9-8,3% de álcoois, 5,9-7,8% de ácidos graxos livres e esteróis, 73,2-76,1% de lipídios polares. Após realizar ensaios de purificação com etanol, determinou a composição da cera refinada, obtendo valores de 6,2-11% de ésteres de cera, 8,1-9,5% de aldeídos, 0,5-3% de triglicerídeos, 11,5-44,5% de álcoois, 36,8-70% de ácidos graxos livres.

De acordo com Minaz (1980) e Icidca (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. Segundo García et al. (1999), a fração oleosa é uma excelente fonte para obtenção de esteróis. Os fitosteróis são álcoois de origem vegetal e estão presentes no óleo na forma livre ou esterificada. A mistura de fitosteróis é composta principalmente por estigmasterol (32%), β -sitosterol

(42%) e campesterol (45%). Apresenta um total em ácidos graxos de 80%, em fitosteróis de 6-8% e entre outros (glicerina, água, terpenos) de 12-14%. Apresenta ainda índice de acidez de 27 mg KOH/g e índice de saponificação de 150 mg KOH/g. De acordo com Paturau (1969), o óleo apresenta índice de acidez entre 24-46 mg KOH/g e índice de saponificação entre 144-156 mg KOH/g.

O óleo recuperado a partir do processo de purificação é utilizado como componente de rações avícolas, lubrificante para metais e como fonte de fitosteróis e outros compostos químicos. Os esteróis constituem uma matéria-prima de grande aplicação nas indústrias alimentícia (como ingrediente funcional) e farmacêutica (GARCÍA et al., 1999).

A resina é um sólido frágil de cor negra brilhosa e insolúvel em acetona e isopropanol, a temperaturas de 70 a 100°C (ICIDCA, 1999). Segundo Garcia et al. (1999), apresenta ponto de fusão mínimo de 80°C, índice de acidez máximo de 15 mg KOH/g e índice de saponificação entre 50-90 mg KOH/g. É empregado principalmente como aditivo e plastificante em pneumáticos e em misturas com cera para a fabricação de tintas para papel carbono e fitas de máquina.

2.2.3.3 Clarificação da cera de cana-de-açúcar

Segundo Hatt (1953), a extração com solvente pode variar a cor da cera obtida, de marrom escuro até esverdeado escuro. O que determina essa variação é a variedade da cana, o método de obtenção aplicado e o solvente utilizado na extração. A pigmentação escura é justificada devido à cera apresentar uma pequena fração insolúvel em etanol a quente.

Portanto, devido a sua cor escura e odor forte, a cera deve passar pelo processo de clarificação (PATURAU, 1969). Porém, a realização de tal processo

não é tão simples, devido à grande quantidade de clorofila presente na cera, que possui comportamento similar aos lipídios, dificultando tal separação (WARTH 1947).

Em estudos citados por Paturau (1969), foram realizados tratamentos em cera de cana utilizando compostos químicos como cloreto de potássio, ácido sulfúrico e ar. Os resultados obtidos foram bons, uma vez que um ligeiro excesso de ácido assegura uma emulsão completa ajudando na clarificação. O ar tem que ser aplicado durante todo o processo, tanto para manter a temperatura abaixo da temperatura limite, quanto para promover uma agitação e facilitar o processo.

Azzam (1986) testou processos de clarificação de cera de cana de açúcar utilizando os seguintes reagentes: ácido crômico, ácido nítrico, cloreto de sódio e cloreto de potássio. Os resultados obtidos com o ácido nítrico não foram muito eficientes, uma vez que não houve uma clarificação visível após a cera ser resfriada e solidificada. Os resultados obtidos com o ácido crômico foram os melhores dentre os demais agentes clarificantes utilizados e a coloração obtida variou entre marrom pálido e amarelo pálido.

Krell (1996) citou métodos de clarificação da cera de cana-de-açúcar utilizando ácido oxálico e peróxido de hidrogênio, ambos dissolvidos em água. O processo consiste em fundir a cera, adicionar o agente clarificante, mantendo a mistura aquecida e com agitação até que o branqueamento seja atingido. No final, a remoção do reagente deve ser feita com água.

Em processo conduzido em escala laboratorial, Phukan & Boruah (1999) utilizaram carvão ativo como agente clarificante. A cera extraída com tolueno e posteriormente dissolvida em isopropanol e tratada com carvão ativo apresentou coloração amarelo clara e baixo índice de acidez. Mais tarde, esta metodologia foi

patenteada. Atualmente, muitas operações comerciais utilizam métodos químicos ou filtros adsorventes especiais para a clarificação das ceras.

2.4 Modificação química da cera de cana-de-açúcar

2.4.1 Saponificação e acidulação

Segundo Pavia et al. (1988), as soluções alcalinas hidrolizam os triacilglicerídios formando sais de ácidos carboxílicos (sabão) e glicerol (álcool). Young et al. (1994) acredita que a reação ocorre em etapas que compreendem a formação de: Sabão + diacilglicerídio; Sabão + monoacilglicerídio e, por fim; Sabão + glicerol.

Woerfel (1995) afirma que a utilização de um excesso de soda caustica, visando a saponificação total do produto em questão, resulta em um produto que contém praticamente ácidos graxos. Em função disso, com o objetivo de aumentar o rendimento em ácido graxo e matéria insaponificável, há necessidade de transformar os monoacil, diacil e triacilglicerídios em ácidos graxos livres, antes da etapa de esterificação, pois esta reação é mais rápida quando comparada a outros compostos.

Durante a saponificação ocorre também a hidrólise de fosfolipídios presentes na matéria bruta, facilitando a separação da fase óleo da fase água no processo de acidulação (RED & ILAGAN, 1978; WOERFEL, 1995).

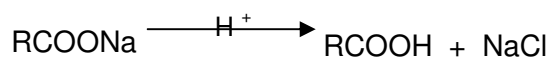
De acordo com Red & Ilagan (1978), o excesso de base adicionada determina a taxa de saponificação e geralmente um excesso de 25% é suficiente, porém esse valor é variável com o tipo de produto. Scavariello (2002), estudando a modificação química e enzimática da borra de neutralização do óleo de farelo de

arroz, evidenciou que a saponificação efetuada com um excesso de NaOH de 25% ainda apresentava uma pequena porcentagem de triacil e diacilglicerídios, após 3 horas de processo, enquanto que no processo efetuado com um excesso de NaOH de 50% não foi detectada a presença de triacil e diacilglicerídios após uma hora de processo. Geralmente, um excesso de 25% de álcali e tempo de processo de 2 horas é suficiente para a saponificação em escalas comerciais, porém estas condições são alteradas de acordo com o tipo de produto (RED & ILAGAN, 1978).

Além disso, a temperatura de saponificação deve ser mantida entre 80-95°C, para prevenir a formação de espuma e manter a viscosidade adequada (RED & ILAGAN, 1978). Estudos desenvolvidos por Haas et al. (2000), evidenciaram que uma temperatura de 100°C é a mais adequada, pois provoca uma reação mais rápida, requer menos álcali e, portanto, menor quantidade de ácido nas etapas subseqüentes.

Estudos sobre acidulação desenvolvidos por Watson & Hoefer (1976) e Woerfel (1983) relatam que o processo de acidulação ocorre através de dois métodos comumente empregados: batelada e contínuo e, em cada um dos processos o produto é tratado com um ácido inorgânico, normalmente sulfúrico ou clorídrico, e mantido por 2-4 horas sob aquecimento (90-130°C) para conversão dos sabões em ácidos graxos.

De acordo com Sonntag (1989), a equação que define a reação pode ser representada da seguinte forma:



Durante a acidulação, o produto é separado da fase água por centrifugação (sistema contínuo) ou por decantação (processo por batelada) (WATSON & HOEFER, 1976). A fase água, que contém ácido sulfúrico livre, sulfato de sódio e impurezas solúveis em água deve ser descartada (SWERN, 1982) e o produto obtido é lavado com água, aquecido por um curto tempo e decantado novamente. Após o descarte da água de lavagem, é obtido o produto ácido (WOERFEL, 1983).

Estudos desenvolvidos por Crauer (1965) evidenciaram, através de curvas de titulação de vários sabões, que a fração de ácido graxo é desprendida do sabão a um pH de 4,0 ou menos, e isto é observado pela queda de viscosidade. Portanto, a acidulação é efetuada em pH por volta de 1,5 a 3,0 para certificar-se que não haja sabão remanescente no processo (WOERFEL, 1983; MAG et al., 1983).

O processo de acidulação causa ainda alguns problemas devido à natureza corrosiva do processo e à contaminação da água a ser descartada por matéria graxa. Com isso, existem nos Estados Unidos regulamentações específicas que restringem a água de descarte com uma contaminação de no máximo 150 mg/Kg de óleo (MAG et al., 1983).

A temperatura do processo também exerce grande influência no processo. Woerfel (1983) cita que, em temperaturas acima de 130°C, o processo passa a ter dificuldades, uma vez que a matéria-prima pode espumar excessivamente, não sendo possível avaliar a reação. Estudo desenvolvido por Scavariello (2002) define como condição ótima para a reação de acidulação da borra de neutralização do óleo de farelo de arroz com ácido sulfúrico, temperatura de 95°C e tempo necessário de processo para a hidrólise completa do sabão de 90 minutos.

2.5 Componentes da cera de cana-de-açúcar

Segundo Vieira (2003), a cera de cana-de-açúcar consiste principalmente em uma mistura de ácidos graxos e álcoois graxos de cadeia longa.

2.5.1 Policosanol

Policosanol é definido como uma mistura de álcoois de alto peso molecular, variando de 24 a 34 átomos de carbono, isolados e purificados da cera de cana-de-açúcar, sendo o principal componente presente o octacosanol – C28 (66%), seguido do triacontanol – C30 (12%), hexacosanol – C26 (7%) e outros álcoois (15% - tetracosanol – C24, heptacosanol – C27, nonacosanol – C29, dotriacontanol – C32 e tetra-triacontanol - C34) (ARRUZAZABALA, 1996, 2000).

As Tabelas 6 e 7 apresentam os resultados encontrados para a composição em álcoois graxos da cera de cana de açúcar e o teor de octacosanol em diferentes amostras analisadas por Vieira (2003).

Tabela 6. Composição em álcoois graxos (%) de diferentes amostras de cera de cana-de-açúcar

Álcool Graxo	% relativa *			
	Cana orgânica bruta	Cana queimada bruta	Cana orgânica purificada	Cana queimada purificada
24:0	7,81	9,42	7,09	8,04
26:0	9,19	10,14	8,90	10,53
28:0	61,54	63,79	67,28	67,70
30:0	12,25	8,67	11,06	7,64
32:0	6,04	4,58	5,57	3,44
34:0	tr	tr	tr	tr
NI	2,15	2,38	-	1,64

* álcool graxo derivado de amostras de cera e analisado como álcool primário
NI = não identificado; tr < 0,5%

FONTE: VIEIRA (2003)

Tabela 7. Teor de octacosanol (%) em diferentes amostras de cera de cana-de-açúcar

Amostra	Concentração (%)
Cera bruta – cana orgânica	11,85
Cera bruta – cana queimada	12,85
Cera purificada – cana orgânica	19,08
Cera purificada – cana queimada	22,48

FONTE: VIEIRA (2003)

2.5.1.1 Métodos para obtenção e concentração da mistura de álcoois graxos

Diversos métodos de obtenção dos álcoois graxos e metodologias de análises destes álcoois foram propostos do ano de 1957 até hoje.

Truter (1950) citado por Rosário (2006), estudou a extração dos álcoois e ácidos graxos da cera de lanolina saponificada através da diluição em etanol e água. Os álcoois foram extraídos com éter de petróleo, e os ácidos podiam ser recuperados por acidificação da fase alcoólica com ácido mineral.

Estudos desenvolvidos por Lamberton et al. (1959) propuseram alguns métodos para separação dos álcoois graxos provenientes da cana de açúcar e realizaram sua caracterização por cromatografia gasosa.

Um processo importante a ser citado é o patenteado por Sunde et al. (1970) para a produção de álcoois e ácidos graxos a partir da cera de lanolina. O processo proposto foi a saponificação com álcali, isopropanol e água. A partir de uma coluna extratora e de hexano foi obtida uma mistura que, lavada com uma solução de KOH 1% e água e, seguida de uma destilação, obteve-se a mistura de álcoois. Já a mistura de ácidos graxos foi obtida através da acidificação da solução remanescente do processo até pH próximo a 7,0.

Laguna Granja et al. (1996) e Rosário (2006) citaram trabalhos que analisaram a extração dos álcoois a partir da reação de saponificação com hidróxido de potássio, dissolvido em quantidade igual de água, com duração de 1 hora e meia. Ao término da reação, a água residual foi evaporada, sendo a umidade remanescente retirada por destilação azeotrópica com benzeno. O produto obtido foi convertido em pó e extraído com benzeno ou 1,2-dicloroetano, obtendo-se os ácidos em forma de sais e um rendimento em álcoois de aproximadamente 7%.

O processo patenteado por Laguna Granja et al. (1996, 1999) baseia o processo de obtenção do policosanol na reação de saponificação homogênea com solução concentrada de hidróxido de sódio, potássio ou cálcio, variando a concentração de 5 a 30% e o tempo de 3 a 10 horas. A partir daí, foi realizada uma extração sólido-líquido com solvente orgânico e tempo de extração de 5 a 20 horas, seguida da cristalização do produto obtido. Através da análise, observou-se um rendimento de 13 a 27,4% e, a pureza, de 92,72 a 94,34%. O perfil do material incluía 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%).

Podemos ressaltar ainda processos como a saponificação com hidróxido de potássio alcoólico, seguida de uma esterificação do material saponificável e posterior destilação molecular com o auxílio de uma coluna com alta eficiência e alto vácuo (LAGUNA GRANJA et al., 1996); saponificação utilizando hidróxido alcalino e separação do material insaponificável por cromatografia em coluna com alumina (LAMBERTON et al, 1959; LAGUNA GRANJA et al., 1999). Porém, segundo Laguna Granja et al. (1999), todos estes procedimentos descritos têm valor do ponto de vista analítico, mas sua implementação em grande escala é difícil, porque o emprego de cromatografia em coluna e destilação molecular são métodos considerados muito caros.

Os álcoois graxos podem ser obtidos a partir de diversas fontes, como: lanolina, cera do óleo de farelo de arroz, cera de carnaúba e óleo de jojoba, incluindo processos de hidrólise da cera com soluções de álcali diluídas; saponificação de ceras com hidróxido de sódio sólido, seguida de destilação a baixa pressão; etc (ROSARIO, 2006).

2.5.1.2 Estudos relacionados à saúde

Além de sua aplicação industrial como substituto para as ceras de carnaúba, abelha e sintéticas, a cera de cana de açúcar, em função do elevando índice de álcoois graxos, também encontra aplicações como agente anti-plaquetário, anti-isquêmico, anti-trombótico e redutor de colesterol (ROSARIO, 2006).

As taxas de colesterol devem ser controladas por uma dieta pobre em lipídios, porém, quando não se obtém o resultado esperado, é necessário intervenção farmacológica, através de medicamentos com os seguintes princípios ativos: atorvastatin, fluvastatin, pravastatin, e simvastatin. Todos estes medicamentos inibem a enzima HMG-CoA (3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A) reductase, que impede a biossíntese de colesterol (TAYLOR, 2003).

Segundo o mesmo autor, o LDL, lipoproteína de baixa densidade, responsável pelo transporte do colesterol do fígado até as células dos tecidos, denominado colesterol ruim, é o principal fator de risco para o aparecimento de doenças coronárias. Outro fator importante para a saúde, além da baixa taxa de LDL, é aumentar a taxa de HDL, ou seja, da lipoproteína de alta densidade (denominado colesterol bom), responsável pelo transporte do excesso de colesterol dos tecidos para o fígado.

A alternativa encontrada na medicina para a substituição dos medicamentos atualmente utilizados é o composto denominado policosanol, mistura de álcoois graxos de cadeia longa, usualmente isolada de cera de cana-de-açúcar e extraída através de processo de saponificação e extração com solvente (HARGROVE, 2003). Segundo Pepping (2003), estudos vem apresentando o policosanol como auxiliar no tratamento de redução dos níveis de LDL colesterol e o colesterol total em pacientes portadores de hipercolesterolemia,

com diabetes mellitus tipo 2, em mulheres na menopausa e em pacientes idosos. O mesmo comprovou que a ingestão de 5 mg de policosanol duas vezes ao dia por pessoas com hipercolesterolemia e, por período de 52 a 104 semanas, reduziram o nível de LDL colesterol em 27,5%; o colesterol total, em 18,3%; e o HDL colesterol foi aumentado em 25,9%.

Além disso, o composto também é auxiliar no tratamento de inibição da agregação das plaquetas que originam os coágulos, causando trombose ou isquemia cerebral (TAYLOR et al., 2003) e na redução dos níveis de triglicerídios (ARRUZAZABALA, 1994).

Segundo Gouni-Berthold (2002), o policosanol diminui o nível de colesterol de animais, voluntários saudáveis e pacientes com hipercolesterolemia tipo II. Estudos realizados pelo mesmo mostram que a ingestão de doses de 10 a 20 mg por dia de policosanol diminuem as taxas de colesterol total de 17 a 21%, reduzem também o nível de LDL de 21 a 29% e aumentam o HDL de 8 a 15%. Apesar de ainda não apresentar estudos mais detalhados, a dose de 20 mg por dia de policosanol se mostrou tão eficiente na redução do colesterol total e do LDL quanto a ingestão de medicamentos como simvastatin ou pravastatin.

De acordo com Irmak (2005), numerosos estudos indicam que a ingestão de 5-20 mg por dia de policosanol apresenta benefícios na proliferação de células musculares lisas, reduzindo a agregação de plaquetas e a oxidação do LDL e, ainda, em formulação que minimiza a fadiga em atletas.

Estudos comparativos demonstram que a utilização do policosanol é mais indicado que o medicamento pravastatin no tratamento de pacientes com hipercolesterolemia tipo II e com altos riscos de doenças coronárias e arterosclerose. Comparando o uso de policosanol e fluvastatin, nos mostra que o efeito da ingestão de 10 mg por dia de policosanol foi o mesmo que a ingestão de

80 mg por dia de fluvastatin. Outro estudo comparativo com lovastatin, nos mostra que o efeito do policosanol continua positivo, ou seja, diminuindo taxas de LDL e aumentando o HDL (TAYLOR, 2003). Em outra experiência, realizada em pacientes com diabetes mellitus não dependentes de insulina, a ingestão de policosanol (10 mg/dia) apresenta resultados melhores quanto à redução do colesterol total e LDL-colesterol, e no aumento do HDL-colesterol, em comparação a ingestão de lovastatin (20mg/dia) (CRESPO, 1999).

Diversos outros estudos relatam tratamentos em pacientes com hipercolesterolemia, nos quais o nível de LDL colesterol reduziu de 17,7% com doses de 5 mg/dia de policosanol, por 6 a 8 semanas; e de 21,5% com doses de 5 mg duas vezes ao dia pelo mesmo período, sendo que o colesterol total foi reduzido em 13,1% (doses de 5mg/dia de policosanol) e em 16,2% (5 mg duas vezes ao dia) (BENÍTEZ et al., 1997); redução do colesterol total em 13,6%, do LDL em 19,1%, a razão LDL/HDL em 25,5% e aumento do HDL em 11,5% (ZORDOYA, 1996); redução significativa nos níveis de LDL em 19,1%, de colesterol total em 13% e da razão colesterol/HLD em 20,0% e LDL/HDL em 24,2%, e aumento significativo nos níveis de HDL em 17,1% (CASTANO et al., 1996).

Noa (2001), estudando os efeitos do policosanol em coelhos, observou que os resultados se apresentaram melhores em comparação a medicamentos como lovastatin. A análise realizada foi com relação à artéria carótida que foi analisada antes e depois do tratamento. O estudo demorou de 7 a 15 dias e três grupos foram analisados: um grupo controle, um grupo que ingeriu 5 e 25 mg/Kg de policosanol e o outro grupo que ingeriu 20 mg/Kg de lovastatin. Amostras de artérias foram analisadas em microscópio eletrônico e os animais tratados com policosanol se apresentaram mais saudáveis que o grupo controle e os tratados com lovastatin.

Arruzazabala (2000), também estudando coelhos alimentados com uma dieta rica em colesterol, observou que doses de 25 e 200 mg/Kg de policosanol foram efetivos na prevenção do desenvolvimento de lesões na aorta, além da redução dos níveis de colesterol em coelhos saudáveis.

Segundo Aleman (1994), o policosanol mostrou-se seguro em uma dosagem de até 500 mg/kg/dia, a qual é 1500 vezes maior que a dosagem padrão recomendada (20 mg/dia) nas referências para seres humanos. Porém, o policosanol é contra-indicado durante a gravidez (RODRIGUES, 1997; 1998), apesar de não ser constado se os metabólitos passam para o leite humano (GOUNI-BERTHOLD & BERTHOLD, 2002).

2.5.2 Ácidos graxos de cadeia longa

Os ácidos graxos saturados de cadeia longa, livres ou esterificados, são predominantes nas ceras sólidas naturais, tanto de origem animal quanto de origem vegetal (WARTH, 1947). O ácido palmítico (C16:0) é o predominante em ceras de abelha (NEGRI et al., 2000), mas cadeias mais longas, com 30 e 32 carbonos, ocorrem na cera de carnaúba (WARTH, 1947).

Gamez et al. (2002) analisaram uma mistura de ácidos graxos isolados de cera de cana-de-açúcar e encontraram o ácido octacosanóico (C28:0) como principal componente. Também encontraram os ácidos palmítico (C16:0), triacontanóico (C30:0), dotriacontanóico (C32:0) e tetratriacontanóico (C34:0). Já os estudos desenvolvidos por Vieira (2003), mostraram que os ácidos graxos encontrados em amostras de cera de cana-de-açúcar foram principalmente os saturados de cadeia normal e longa, de 16 a 34 carbonos, com uma predominância do ácido palmítico (C16:0) e octacosanóico (C28:0), conforme apresentado na Tabela 8.

Tabela 8. Composição em ácidos graxos esterificados de cera de cana-de-açúcar e ceras comerciais

Ácido graxo*	% de área do cromatograma					
	cana orgânica bruta	cana queimada bruta	cana orgânica purificada	cana queimada purificada	abelha	carnaúba
14:0	tr	Tr	-	-	tr	tr
16:0	30,19	41,43	19,44	22,18	78,24	5,90
18:0	5,86	1,97	2,95	tr	7,31	2,45
18:1	7,33	6,07	2,89	2,97	3,61	tr
18:2	3,21	3,32	1,27	1,38	-	-
20:0	tr	1,98	tr	tr	1,43	11,17
22:0	tr	Tr	tr	tr		
24:0	8,80	12,94	19,46	26,21	2,98	14,68
26:0	2,06	1,65	3,54	2,85	3,60	30,62
28:0	23,17	19,42	34,65	30,64	1,08	11,76
30:0	6,61	5,03	7,18	7,02	tr	16,15
32:0	2,63	Tr	2,72	1,77	tr	3,26
34:0	1,87	Tr	2,47	1,81	tr	tr
NI	8,27	6,19	3,43	3,17	1,00	4,01

*ácido graxo derivado de amostras de cera e analisado como álcool terciário (cada valor é a média de 2 repetições)

NI = soma dos picos não identificados tr = <1,00%

Fonte: VIEIRA , 2003

2.5.2.1 Aplicações dos ácidos graxos de cadeia longa

Pattison (1959) define diversas aplicações dos ácidos graxos de cadeia longa. Em potencial, podemos citar a aplicação em proteções e revestimentos decorativos. Em menor grau, os ácidos graxos são usados na produção de reconstituição de óleos e derivados pela esterificação dos mesmos. A grande importância dos ácidos graxos em proteção são os ácidos graxos saturados presentes nos vegetais. Pouco se utilizam os ácidos graxos de origem animal.

Em cosméticos, muitas loções, cremes, shampoos, “rouge”, máscaras e cremes para os cabelos contém ácidos graxos de uma forma ou outra. Estes ácidos graxos adicionados aos cosméticos auxiliam no shelf-life dos produtos, como auxiliar na estabilidade da cor e da textura, de tornarem os produtos puros, e estáveis. Como método de avaliação de qualidade dos produtos de cosméticos, é muito importante avaliar a estabilidade da cor, do odor e a presença de estruturas cristalinas no produto e, com a adição dos ácidos graxos, há uma enorme contribuição para a melhora destes atributos (PATTISON, 1959). Além disso, os ácidos graxos podem saponificar e esterificar, características importantes para a indústrias de cosméticos e para os produtores de sabões, emulsificantes e emolientes, uma vez que os problemas destas indústrias se deve ao fato de seus produtos serem compostos por óleos/gorduras e água, uma combinação não natural e instável. Para a resolução destes problemas, adiciona-se os ácidos graxos, contribuindo assim para características de adesividade, lubrificação e expulsão de água (PATTISON, 1959).

2.5.2.2 Fração D-003

Segundo diversos autores, a fração D-003 é definida como a mistura de ácidos graxos saturados de cadeia longa, isolados e purificados da cera de cana-de-açúcar. Apresenta como maior componente o ácido octacosanóico (C28:0), seguido dos ácidos triacontanóico (C30:0), dotriacontanóico (C32:0) e tetratriacontanóico (C34:0) (GAMEZ, 2000; CARBAJAL, 2004; ARRUZAZABALA, 2004).

Estudos desenvolvidos ainda em animais, demonstram o efeito da fração D-003 sob diversos aspectos relacionados a saúde, como: diminuição do colesterol; proteção à oxidação das lipoproteínas do plasma; efeitos anti-trombóticos e anti-plaquetários. (ARRUZAZABALA, 2004; CARBAJAL, 2004; RODRIGUEZ, 2003; MOLINA, 2002).

Molina et al. (2000), pôde constatar que a administração de D-003 (5 -500 mg/Kg), duas horas antes da indução de trombose em ratos, inibiu significativamente a redução da temperatura retal e a administração de doses únicas de 50 – 200 mg/Kg, duas horas antes das análises experimentais, aumentou significativamente o tempo de sangramento dos animais. O tempo de efeito apresentado pelo D-003 sob a agregação de plaquetas, a formação de trombose arterial e o tempo de sangramento, se mostrou máximo em 1-2 horas após tratamento, sendo que 0,5 horas e 4 horas após o tratamento, os resultados foram mínimos.

Gamez (2000), mostrou que a ingestão de 5 a 200 mg/kg de D-003 por 30 dias em ratos com elevado colesterol, reduziu significativamente os níveis de LDL de 64,5 a 84,4% e aumentou os níveis de HDL. Outro estudo relata o efeito do D-003 (500, 1000 e 2000 mg/kg por 14 dias) sob a coagulação sanguínea, aumentando o tempo de coagulação em ratos. Também há relatos que a ingestão

de doses únicas de 25 a 200 mg/kg inibe a agregação de plaquetas induzidos pelo colágeno e pelo ADP em porcos e ratos, enquanto doses de 5 a 500 mg/kg previnem o aparecimento de trombose (MOLINA et al., 2000).

Mendoza (2001), apresentou um estudo comparativo sobre o D-003 e o policosanol. Também estudando os efeitos das frações em animais, dividiu-os em três grupos: um grupo controle, um grupo tratado com D-003 e outro tratado com policosanol, ambos na concentração de 5 mg/Kg, durante 30 dias. Após 15 dias de tratamento, os níveis de colesterol total e LDL haviam baixado significativamente comparados ao grupo controle (com ambos os medicamentos em teste). Ao decorrer de mais 15 dias, comparando-se o grupo tratado com D-003 com o grupo controle, observou-se que os níveis de colesterol e LDL diminuíram significativamente. Já comparando-se o grupo tratado com D-003 e policosanol, pode-se observar que a redução de LDL foi de 45,3% e 38,1%, respectivamente. A redução do nível de colesterol foi similar para ambos os tratamentos (42,4% - D-003 e 41,2% - policosanol), porém, o nível de colesterol total teve maior redução com o grupo tratado com policosanol. Em ambos os tratamentos houve aumento no nível de HDL e os níveis de triglicerídios não apresentaram mudança significativa.

Rodriguez et al. (2003) publicaram um estudo em que a fração D-003 era diluída em soluções e administradas em diversas porções (5, 100 and 1000 mg/kg/dia) por vários dias, concluindo que a ingestão em até 1000 mg/kg/dia não apresenta toxicidade alguma.

No mesmo ano foi publicado na Medscape, um trabalho em que se estudou os efeitos da ingestão da fração D003 por pacientes com elevadas taxas de colesterol. Os pacientes foram selecionados de acordo com o sexo, idade, fatores de riscos coronários e uso de concomitantes de medicamentos. A ingestão variava de 5, 10, 20 e 40 mg/dia e o tratamento teve uma duração de 60 dias,

porém as mudanças já eram notadas logo no primeiro mês de tratamento. As mudanças foram significativas quanto ao nível de LDL, HDL, Triglicerídeos e Colesterol. Os níveis de HDL aumentaram significativamente (na faixa de 13%, dependendo da quantidade de D003 ingerida), enquanto os níveis de LDL, Colesterol e Triglicerídeo diminuíram (26%, 17% e 16%, respectivamente e também variando de acordo com a quantidade ingerida).

Carbajal (2004), estudando a medula óssea de ratos na Nova Zelândia, observou que o tratamento com D-003 (25 e 200 mg/Kg) foi mais efetivo na proteção de patologias do que o atual medicamento utilizado (ácido acetilsalicílico – ASA), na dosagem de 2 mg/Kg. A mortalidade dos grupos tratados foi 38,7% no grupo controle, 7,69% do grupo tratado com ASA, enquanto que o grupo tratado com D-003 ainda não havia apresentado morte alguma.

3. Material e Métodos

3.1. Material

3.1.1. Matéria-prima

Cera de cana-de-açúcar clarificada e purificada fornecida pela UFRA - Usina São Francisco, em Sertãozinho, São Paulo.

O processo de clarificação foi realizado através da adição de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), em 4 porções, à temperatura de 72,5°C e concentração de 10% de H_2O_2 . O processo de purificação foi realizado na Usina São Francisco, através da lavagem com etanol a frio (10°C), obedecendo a relação cera bruta:solvente 1:4 (p/v), durante 30 minutos.

3.1.2 Equipamentos

- Agitador de tubos Phoenix, modelo AT-56
- Balança analítica marca Ohaus, modelo Adventury AR 2140;
- Balança semi-analítica marca Libror, modelo EB-3200D;
- Banho termostático Lauda, modelo RC 20;
- Centrífuga MTD III PLUS, modelo 3PL;
- Cromatógrafo a gás CGC Agilent 6850 Series GC – System;

- Estufas com circulação de ar: Memmert, modelo UL 40; Heraeus, modelo VT 5042 EK; Quimis;
- Evaporador rotativo Fisatom, modelo 802A;
- Extrator tipo Butt Tecnal, modelo Sebelim TE-188;
- Freezer marca Consul, modelo 320;
- Moedor elétrico Foss Tecator – KNIFETEC – modelo 1095 Sample Mill;
- Penetrômetro marca Petrodidática, modelo Universal;
- Placas de aquecimento com agitação magnética: IKA Werke RCT; Fisatom, modelo 752A;

3.1.3 Reagentes e outros insumos

- Reagentes grau P.A.
- Padrão de álcool graxo - Lestanol ® (Policosanol 99,5%), gentilmente cedido por Garuda International Inc., Lemon Cove, USA, e utilizado como padrão.
- Padrões de álcoois graxos (C18 e C28) e ácidos graxos (C14 e óleo de mostrada C18) para análises cromatográficas.

3.2. Métodos

3.2.1 Métodos analíticos

- **Índice de Acidez – determinado pelo método AOCS Cd 3d-63** (AOCS, 1999), adaptado segundo Li & Parish, 1998, e realizado em triplicata. Pesou-se aproximadamente 1 g de amostra em erlenmeyer de 250 mL. Adicionou-se 10 mL de toluol e a mistura foi aquecida em banho até que a amostra estivesse completamente dissolvida. Em seguida, adicionou-se 100 mL de álcool etílico previamente neutralizado e colocou-se novamente em banho até a solução entrar em ebulição. A amostra foi titulada com solução padronizada de NaOH 0,05 N, utilizando fenolftaleína 1% (em álcool) como indicador.

O índice de acidez (IA), expresso em mg KOH necessários para neutralizar 1 g de amostra, foi calculado pela seguinte fórmula:

$$IA \text{ (mg KOH/g)} = \frac{(V \times N \times 56,1)}{m}$$

Sendo: V = volume gasto na titulação da amostra em mL

N = Normalidade da solução de NaOH utilizada

m = massa da amostra em gramas

- **Índice de Saponificação** - determinado pelo método oficial AOCS - Cd 3-25 (AOCS, 2002), adaptado por Vieira (2003), e realizado em triplicata. Pesou-se aproximadamente 0,5 g de amostra em um balão de fundo redondo de 250 mL e adicionou-se 25 mL de toluol sob aquecimento em banho-maria, até que a amostra estivesse completamente dissolvida. Em seguida, foram adicionados 50

mL de solução etanólica KOH 0,7 N e a mistura foi mantida sob refluxo por 8 horas. Após resfriamento, a solução foi titulada com solução padronizada de HCl 0,5 N, utilizando fenolftaleína 1% (em álcool) como indicador. Um branco foi preparado e conduzido simultaneamente com a amostra, similar em todos os aspectos, apenas sem amostra.

O índice de saponificação (IS), expresso em mg KOH/g, foi calculado pela seguinte fórmula:

$$IS \text{ (mg KOH/g)} = \frac{[(B - V) \times N \times 56,1]}{m}$$

Sendo: B = volume gasto na titulação do branco (mL)

V = volume gasto na titulação da amostra (mL)

N = Normalidade da solução de HCl utilizada

m = massa da amostra (gramas)

- Índice de Iodo segundo Wijs - determinado pelo método AOCS Cd 1d-92 (AOCS, 1997), adaptado segundo Vieira (2003), e realizado em triplicata. Amostras de 0,5 g aproximadamente foram dissolvidas em 7,5 mL de ciclohexano e aquecidas em chapa até que a amostra estivesse completamente dissolvida. Após resfriamento, adicionou-se 7,5 mL de ácido acético e 25 mL de solução de cloro-iodo segundo Wijs. O frasco foi tampado e mantido no escuro por 1 hora. Foram adicionados 20 mL de solução de KI 10% e 150 mL de água destilada. A amostra foi titulada com solução padronizada de tiosulfato de sódio 0,1N, utilizando solução de amido 1% como indicador. Preparou-se um branco sob as mesmas condições, apenas omitindo a amostra.

O índice de iodo (II), expresso em mg de iodo absorvido por 100 mg de amostra, foi calculado pela seguinte fórmula:

$$II \text{ (mg / 100g)} = \frac{[(B - V) \times N \times 12,69]}{m}$$

Sendo: B = volume gasto na titulação do branco (mL)

V = volume gasto na titulação da amostra (mL)

N = Normalidade da solução de tiosulfato de sódio utilizada

m = massa da amostra (gramas)

- **Consistência** - determinada de acordo com o método oficial ASTM - D 1321 (ASTM, 2002). Utilizou-se penetrômetro modelo Universal, Petrodidática, com as amostras termostatizadas a 25°C. A análise foi realizada na Indústria Megh – Ceras e Emulsões, em triplicata.

- **Ponto de Fusão** (Capillary Tube Method) - determinado pelo método oficial AOCS Cc 1-25 (AOCS, 1993) e realizado em triplicata.

- **Teor de Matéria Insaponificável** - baseado no método oficial AOCS – Ca 6a-40, (AOCS, 1993), adaptado como segue e realizado em triplicata. Cerca de 0,5 g de amostra foram dissolvidos em 10 mL de toluol, aquecidos e então adicionou-se 5 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 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 interfase. 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 N, intercaladas com porções de água destilada. Após a terceira lavagem com KOH, a fração etérea foi lavada com água até teste de fenol negativo, transferida para um balão tarado e o solvente evaporado. O material foi seco em estufa a 105°C, até peso constante, esfriada em dessecador e então pesada.

O teor de matéria insaponificável da amostra foi calculado pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ Mat. Insaponificável} = (\text{Peso balão com amostra após secagem} - \text{Peso balão vazio})/m \times 100$$

Sendo: m = massa da cera em gramas

- Composição em ácidos graxos e álcoois graxos - determinado pelo método oficial AOCS Ce 1-62 (AOCS, 1997), por cromatografia gasosa dos ésteres metílicos dos ácidos graxos, utilizando-se um cromatógrafo gasoso CGC Agilent 6850 Series – CG System, equipado com Detector de Ionização de Chama (FID) e injetor com “split”. Os componentes foram separados em coluna capilar de sílica fundida LM-5 (polidifenildimetilsiloxano), com comprimento de 30 m, diâmetro interno de 0,25 mm e espessura de filme de 0,30 µm. Amostras de 1,0 µL foram injetadas a uma taxa de “split” de 1:50 e utilizou-se como gás de arraste o gás hélio, com uma vazão de 1,1 mL/min. As temperaturas do injetor e do detector empregadas foram mantidas constantes (320°C) e a programação de temperatura

na coluna foi de 180°C por 5 minutos, 180 a 300°C (4°C/min) e 300°C por 35 minutos, totalizando 70 minutos de corrida. Os ésteres metílicos foram preparados de acordo com Hartman & Lago (1973), modificando-se apenas o tempo de saponificação para 20 minutos, segundo Gandra (2006), e as amostras de ésteres foram injetadas em éter de petróleo. A identificação dos picos foi realizada por comparação dos tempos de retenção dos componentes da amostra com os tempos de retenção do padrão óleo de mostarda, injetado nas mesmas condições e, a quantificação por normalização de áreas, realizado pelo software Agilent CG Chemstation Plus. A composição cromatográfica foi realizada em duplicata.

3.3 Procedimento experimental

O processo aplicado consistiu basicamente das seguintes etapas: saponificação da cera clarificada e purificada, acidulação, concentração da fração rica em álcoois graxos e purificação deste último concentrado.

3.3.1 Caracterização físico-química da cera de cana-de-açúcar clarificada

Para a caracterização físico-química da cera de cana-de-açúcar clarificada e purificada foram realizadas as seguintes análises: Índice de acidez, Índice de saponificação, Índice de iodo segundo Wijs, Consistência, Ponto de fusão, Teor de matéria insaponificável e Composição em ácidos e álcoois graxos.

3.3.2 Modificação química da cera de cana-de-açúcar clarificada e purificada

3.3.2.1 Saponificação

Segundo Rosário (2006) e conforme indicado nas patentes de LAGUNA GRANJA et al. (U.S. Patent 5.663.156, 1997 e U.S. Patent 5.856.316, 1999), o processo para concentração dos álcoois graxos envolve inicialmente uma etapa de saponificação da cera de cana-de-açúcar. A etapa de saponificação teve como objetivo hidrolizar os monoacil, diacil, triacilglicerídios e ésteres, transformando todos os ácidos graxos em sabões.

Esta etapa foi realizada de acordo com Scavariello (2002), que relatou a saponificação da borra do óleo de arroz, em que, foram colocados 100 g de amostra (neste caso, cera clarificada e purificada) em um balão de fundo redondo adicionando NaOH 26°Bé, gradativamente. O sistema foi mantido sob agitação, à temperatura de 100°C (sob refluxo), durante uma hora. A quantidade de NaOH necessária foi determinada considerando o índice de saponificação da cera (quantidade estequiométrica) mais 50% de excesso.

3.3.2.2 Acidulação

Na acidulação, transforma-se os sabões formados na saponificação em ácidos graxos.

O processo de acidulação foi efetuado segundo Scavariello & Barrera Arellano (2004). A cera foi colocada em contato direto com ácido clorídrico diluído a 10%. A quantidade de ácido clorídrico utilizada foi baseada na relação molar estequiométrica da reação (1 mol de HCl para 1 mol de sabão). Em um balão de fundo redondo, com agitação magnética, foram aquecidos a 95°C, sob refluxo, por

uma hora e meia, 100 g de cera saponificada e o ácido, adicionado gradativamente. Após esse tempo, a mistura permaneceu sob repouso para que ocorresse a separação das fases por gravidade e a água ácida pudesse ser eliminada. A fase oleosa foi então lavada com água quente (4 lavagens de 100 mL), para a total retirada dos resíduos de ácido mineral.

3.3.3 Processos para a obtenção dos concentrados graxos

3.3.3.1 Concentração utilizando solução salina e etanol a quente

Esta etapa foi realizada segundo Rosário (2006). A cera saponificada e acidulada, obtida na etapa anterior, foi adicionada de solução salina 7,5% (relação cera:solução salina igual a 1:7,5) para eliminar possíveis impurezas.

Em seguida, adicionou-se etanol anidro (relação cera:etanol igual a 1:20) e a mistura foi mantida sob agitação e aquecimento até atingir a temperatura de ebulição (79°C). O aquecimento e a agitação foram interrompidos e a solução foi mantida em repouso por 1 hora, para a decantação de possíveis impurezas presentes na amostra. 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 foi separado por filtração e seco em estufa (60°C/3 h) para determinação do rendimento (%) da mistura de álcoois graxos e da pureza (% álcoois graxos) (Figura 2).

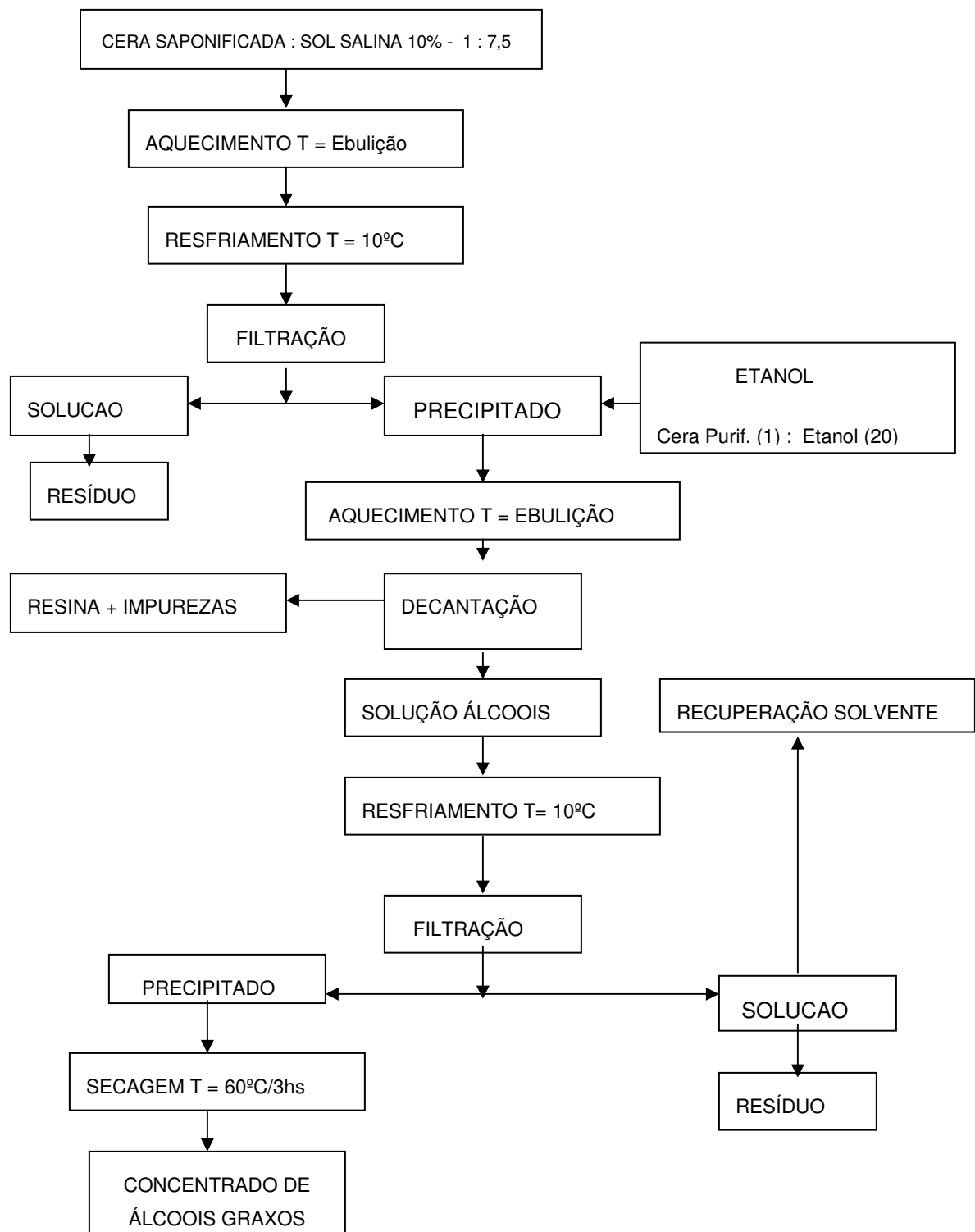


Figura 2. Fluxograma do processo de concentração de álcoois graxos utilizando solução salina e etanol a quente a partir de cera saponificada/acidulada de cana-de-açúcar.

3.3.3.2 Concentração utilizando solução salina e etanol a frio

Utilizou-se a lavagem com etanol a frio, uma vez que os álcoois teriam o caráter insolúvel em etanol. Neste processo, manteve-se a lavagem com solução salina 7,5%, porém, substituiu-se a lavagem com etanol a quente por etanol a frio, relação cera:etanol 1:20, à temperatura de 10°C , por 1 hora. Decorrido o tempo determinado, a mistura foi filtrada e analisada quanto ao rendimento em álcoois. A partir desta reação, efetuou-se a análise tanto do filtrado como do material retido no filtro, ambos secos em estufa (60°C/3 h) (Figura 3).

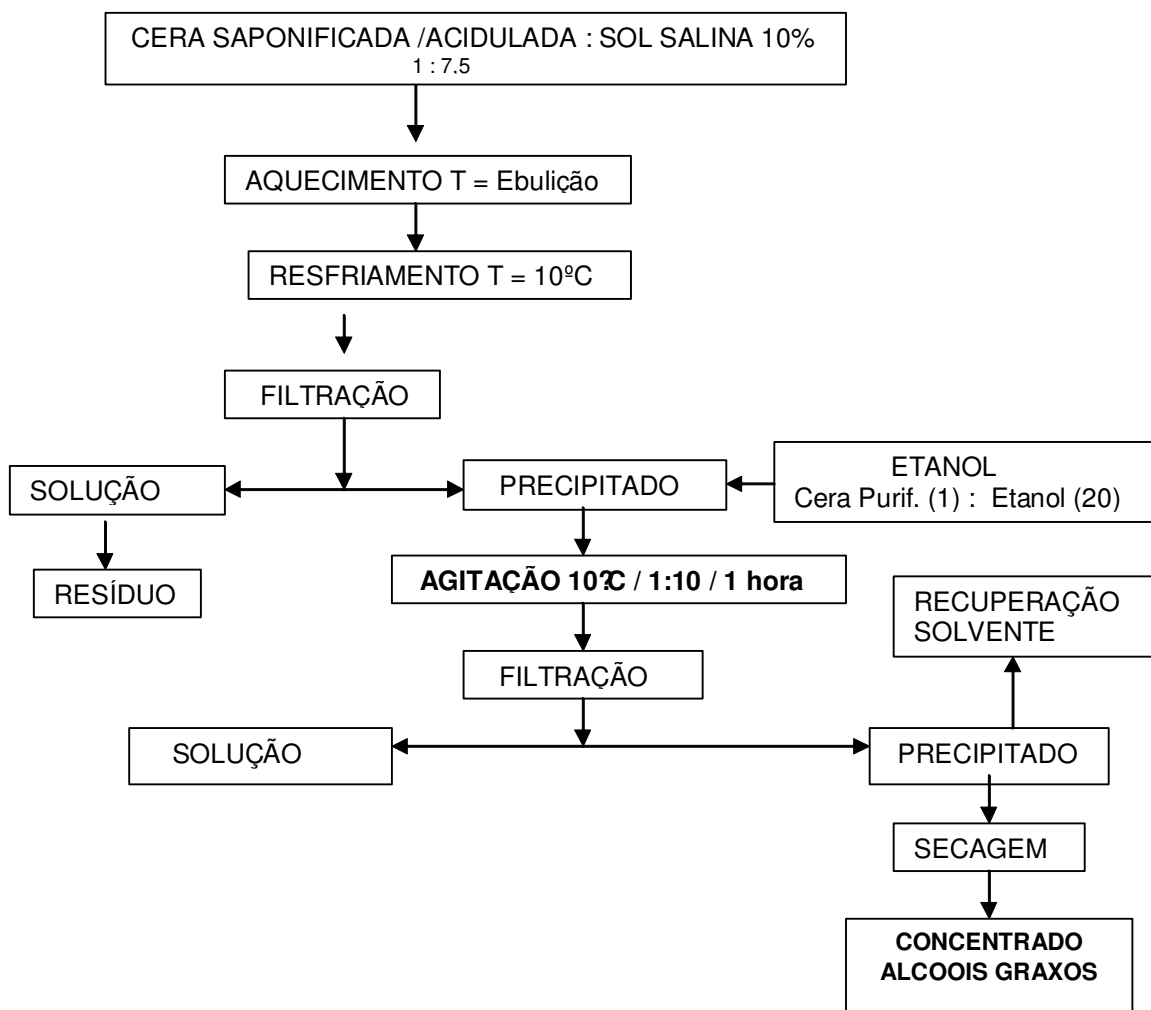


Figura 3. Fluxograma do processo de concentração de álcoois graxos utilizando solução salina e etanol a frio a partir de cera saponificada /acidulada de cana-de-açúcar.

3.3.3.3 Concentração utilizando etanol frio

A concentração sem a lavagem com solução salina, ou seja, lavando a cera saponificada e acidulada diretamente com etanol a frio, foi realizada conforme o item 3.3.2.4. Após o período determinado, os materiais obtidos (solução e precipitado) foram secos em estufa (60°C/3 h) para determinação do rendimento (%) da mistura de álcoois e pureza (%) (Figura 4).

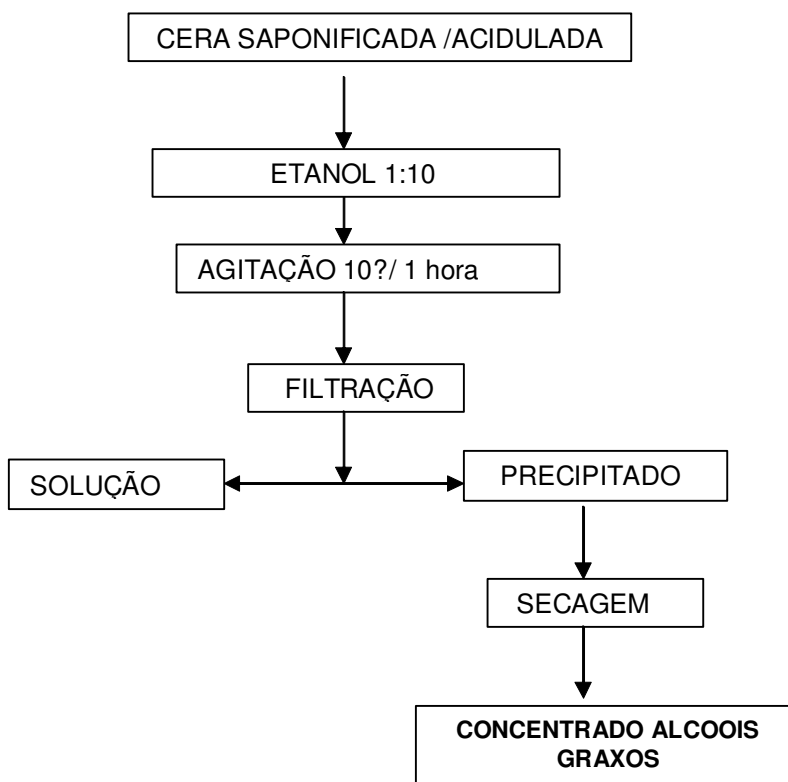


Figura 4. Fluxograma do processo de concentração de álcoois graxos utilizando etanol a frio a partir de cera saponificada/acidulada de cana-de-açúcar.

3.3.3.4 Concentração utilizando água e etanol a frio

Nesta, etapa repetiu-se o procedimento citado no item 3.3.2.4, porém substituindo-se a solução salina por água quente (Figura 5).

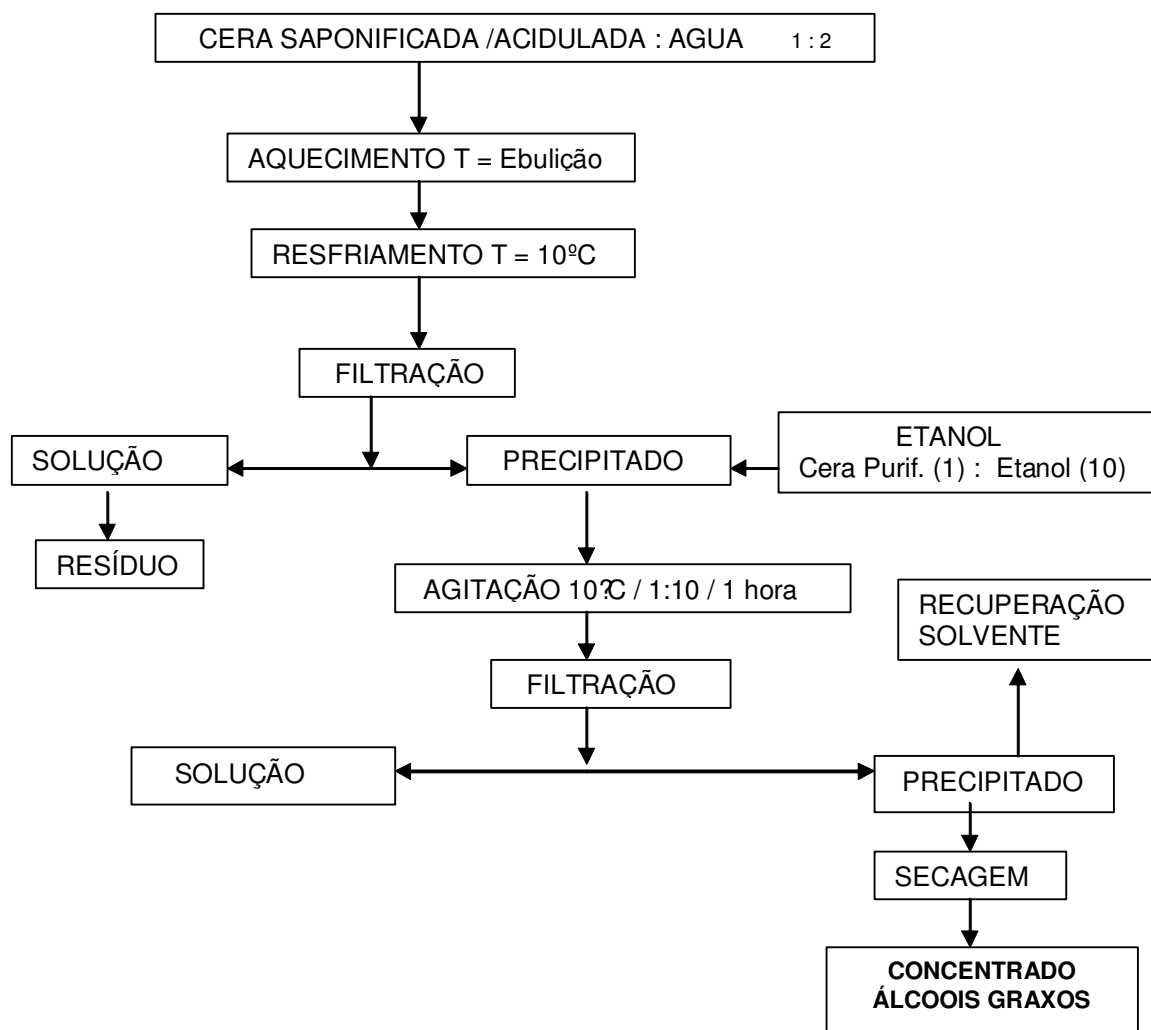


Figura 5. Fluxograma do processo de concentração de álcoois graxos utilizando água quente e etanol a quente a partir de cera saponificada/acidulada de cana-de-açúcar.

A Tabela 9, apresenta as relações cera:água testadas, bem como as temperaturas de concentração utilizadas. Definido este parâmetro, foi analisada também a reprodutibilidade da reação com variadas concentrações de cera:etanol (1:5; 1:10; 1:15; 1:20; 1:30). A temperatura de 10°C e o tempo de lavagem de 1 hora foram mantidos constantes.

Tabela 9. Relações cera:água e temperaturas de concentração utilizadas no processo

Massa cera (g)	Relação Cera:água	Temperatura (°C)
2,5	1:2	20; 40; 60; 80; 100
2,5	1:5	-
2,5	1:7,5	-
2,5	1:10	-
2,5	1:15	-

3.3.4 Processo de purificação do concentrado de álcoois graxos

Com o objetivo de obter um produto com alto teor em álcoois (pureza), foram realizados ensaios de purificação do concentrado obtido de acordo com o item 3.3.2.6 e da cera sem lavagem prévia (cera saponificada e acidulada), para verificação da real necessidade da lavagem do produto com água e etanol. Em um erlenmeyer acoplado a um condensador e com agitação, foram colocados o concentrado de álcoois graxos (10 g) e acetona, em relações cera:acetona de 1:10; 1:20; 1:30; 1:40 e 1:50 (p/v). A mistura foi aquecida com agitação constante, utilizando-se uma chapa aquecedora, e mantida em refluxo por 30 minutos. O material precipitado foi filtrado a quente e a amostra foi seca em estufa (60°C/6 h) para determinação do rendimento (%) da mistura de álcoois e da pureza (%).

3.3.5 Caracterização do concentrado de álcoois e ácidos graxos

O concentrado de álcoois graxos e de ácidos graxos foi caracterizado através do método já citado no item 3.2.1. (Composição em ácidos graxos e álcoois graxos). A identificação dos picos foi realizada por comparação dos tempos de retenção de padrões internos (álcool C18 e C28) e também com os tempos de retenção do padrão Lestanol ® (99,5% de pureza) para álcoois e, ácido mirístico para ácidos, determinados nas mesmas condições. Foi preparada uma curva padrão com 4 concentrações diferentes de octacosanol (1 mg, 0,7 mg, 0,5 mg, 0,2 mg/ 1 mg C18). A quantificação foi feita a partir da equação da curva padrão.

4. Resultados e Discussão

4.1 Caracterização físico-química da cera de cana-de-açúcar clarificada

A Tabela 10 apresenta as características físico-químicas da cera de cana-de-açúcar clarificada.

Tabela 10. Características físico-químicas da cera de cana-de-açúcar clarificada

Determinações	Resultados	Desvio padrão
Índice de Acidez (mg KOH/g)	13,2	0,21
Índice de Saponificação (mg KOH/g)	96,2	0,27
Índice de Iodo – Wijs (mg I ₂ /100g)	21,5	0,15
Ponto de Fusão (°C)	75,0	-
Matéria Insaponificável (%)	48,5	1,89
Penetração (1/10 mm), 25°C	1,5	0,05

O índice de acidez foi menor que os apresentados em literatura, uma vez que trata-se da cera clarificada e purificada. Vieira (2003) encontrou valor de índice de acidez em amostra de cera purificada com hexano de 20,54 mg KOH/g. Gandra (2006) e Rosário (2006), trabalhando com a cera bruta, apresentaram valores maiores, 23,2 e 39,6 mg KOH/g, respectivamente. García *et al.* (2003), em um estudo sobre métodos de extração e purificação da cera de cana-de-açúcar, determinaram as propriedades químicas da cera obtida por processo de purificação com etanol e relataram valores de índice de acidez de 27 mg KOH/g.

Quanto ao índice de saponificação, o valor encontrado se manteve dentro da faixa observada em outros trabalhos. Em estudos realizados por Warth (1947), foram encontrados valores de índice de saponificação de 54 a 148 mg de KOH/g em amostras de cera purificada e semi-purificada, encontrando um valor médio de 96 mg de KOH/g para a amostra de cera semi-purificada. Estudos realizados por Vieira (2003) e Gandra (2006) encontraram valores de índice de saponificação para a cera purificada de 77,9 mg de KOH/g e 79,1 mg KOH/g, respectivamente. Rosário (2006) encontrou valores um pouco maiores, aproximadamente 118,3 mg KOH/g e García et al. (1998) reportaram valores variando de 90 a 100 mg de KOH/g para amostras de cera refinada com álcool e valores de 150 mg de KOH/g para a fração óleo separada.

O resultado encontrado para o índice de iodo foi similar ao encontrado por Gandra (2006) e García *et al.* (2003), na faixa de 21 mg I₂/100g. Já Vieira (2003) e Rosário (2006) encontraram valores bem diferentes, sendo 12,6 mg I₂/100g e 55,7 mg I₂/100g, respectivamente.

Azzam (1984) encontrou para a cera de cana de açúcar faixa de fusão de 79° a 83°C. Através dos experimentos realizados neste trabalho pode-se encontrar 75°C como a temperatura de fusão. Trabalhos anteriores também encontraram valores dentro do citado anteriormente. Gandra (2006) relatou a temperatura de 78,3°C, enquanto Rosário (2006) encontrou a temperatura de 70,2°C, ambas trabalhando com cera bruta. Essa variação pode ser atribuída ao ponto de fusão das ceras que depende principalmente da proporção dos seus constituintes, da variedade de cana cultivada e do processo de purificação.

O resultado encontrado para a análise de teor de matéria insaponificável foi de 48,5%. Os valores já relatados referente a esta análise foram de Vieira (2003), que encontrou valor de 55,60% e Rosário (2006), 50,8%.

O valor encontrado para o teste de penetração (1,46) foi inferior aos relatados em literatura. García et al. (1999) encontraram valores variando de 2 a 4 (1/10 mm) para ceras purificadas com etanol. Warth (1947) encontrou o valor máximo de 2 (1/10 mm) e Gandra (2006) relatou valor de 2,3 (1/10 mm).

4.1.1 Composição em ácidos e álcoois graxos

A Figura 6 e as Tabelas 11 e 12 apresentam os resultados da composição em ácidos e álcoois graxos da cera de cana de açúcar clarificada e purificada.

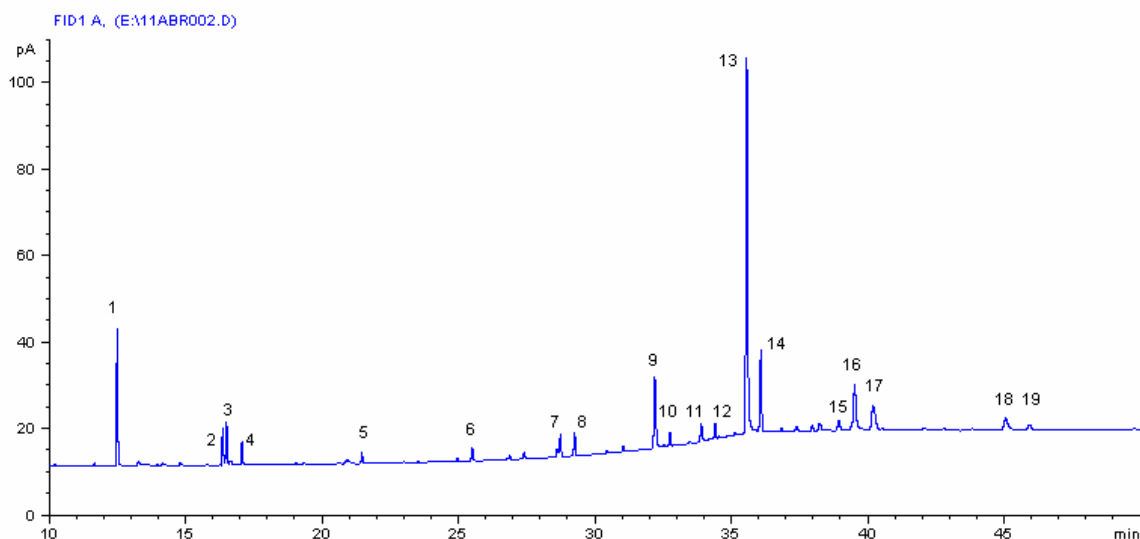


Figura 6. Cromatograma dos ácidos e álcoois graxos da cera de cana-de-açúcar clarificada e purificada. 1: ácido palmítico (C16); 2: ácido linolênico (C18:3); 3: ácidos linoléico (C18:2) e oléico (C18:1); 4: ácido esteárico (C18); 5: ácido eicosanóico (C20); 6: ácido docosanóico (C22); 7: álcool tetracosanol (C24); 8: ácido tetracosanóico (C24); 9: álcool hexacosanol (C26); 10: ácido hexacosanóico (C26); 11: álcool heptacosanol (C27); 12: pico não identificado; 13: álcool octacosanol (C28); 14: ácido octacosanóico (C28); 15: pico não identificado; 16: álcool triacontanol (C30); 17: ácido triacontanóico (C30); 18: álcool dotriacontanol (C32); 19: ácido dotriacontanóico (C32).

Tabela 11. Composição em ácidos graxos (%) da cera de cana-de-açúcar clarificada e purificada

ÁCIDOS	% de área no cromatograma *
16:0	26,70
18:3	8,00
18:2 +18:1	10,10
18:0	5,50
20:0	2,43
22:0	2,90
24:0	5,25
26:0	3,05
28:0	20,12
30:0	13,07
32:0	2,88

* Cada valor é a média de 2 repetições.

Tabela 12. Composição em álcoois graxos (%) de cera cana-de-açúcar clarificada e purificada

ALCOOIS	% de área no cromatograma *
24:0	4,30
26:0	13,09
27:0	2,95
28:0	64,56
30:0	11,15
32:0	3,95

* Cada valor é a média de 2 repetições.

Os ácidos e álcoois graxos da amostra de cera de cana-de-açúcar clarificada foram principalmente os saturados de cadeia normal e longa, de 16 a 32 carbonos e 24 a 32 carbonos, respectivamente.

A amostra apresentou 81,9% de ácidos graxos saturados, com uma predominância do ácido palmítico (C16:0) e octacosanóico (C28:0), com 26,7% e 20,1% respectivamente, conforme apresentado na Tabela 11. Os ácidos graxos insaturados presentes são o linolênico (C18:3), linoléico (18:2) e oléico (18:1) representando aproximadamente 18% dos ácidos graxos presentes na cera clarificada e purificada.

O principal álcool graxo saturado encontrado foi o octacosanol (C28:0), representando aproximadamente 64,5% dos álcoois presentes na cera.

Em estudos desenvolvidos por Vieira (2003), Gandra (2006) e Rosário (2006) pode-se observar resultados bem similares, indicando como principais componentes os ácidos palmítico e octacosanóico e o álcool octacosanol. Vieira (2003) também relatou que os principais ácidos graxos saturados encontrados na amostra de cera de cana de açúcar purificada com hexano foram o ácido palmítico (19,4%), tetracosanóico (19,5%) e octacosanóico (34,7%). Gandra (2006) relatou como principais ácidos o ácido palmítico (25,7%) e o octacosanóico (20%). A composição em álcoois graxos, relatado nos três trabalhos citados acima, foi realizado segundo a metodologia proposta por Pina et al. (1987), adaptada por Vieira (2003), sendo que o principal componente encontrado foi o álcool octacosanol (C28:0). Vieira (2003) encontrou valores de 63,8% e 11% para os álcoois octacosanol e triacontanol, respectivamente e ainda relatou que os álcoois graxos de até 28 carbonos compõe 78 a 86% do total de álcoois nas amostras de cera de cana-de-açúcar. Gandra (2006) e Rosário (2006) encontraram como principais componentes os álcoois hexacosanol e octacosanol, relatando valores de 13,1% e 62,4% e, 18,8% e 57,3%, respectivamente.

Gamez et al. (2002) também analisaram uma mistura comercial de ácidos graxos isolados de cera de cana-de-açúcar e encontraram o ácido octacosanóico

como principal componente. Também encontraram os ácidos palmítico, triacontanóico (C30:0), dotriacontanóico (C32:0) e tetratriacontanóico (C34:0).

4.2 Estudo do processo de concentração dos compostos graxos

4.2.1 Saponificação e acidulação da cera clarificada e purificada

Os processos de saponificação e acidulação foram realizados de forma segura e eficiente, não apresentando qualquer tipo de problema durante a sua realização. O processo de saponificação e acidulação alterou a cor da cera clarificada e purificada e esta alteração deve-se ao fato da aplicação de altas temperaturas sob a amostra e devido ao uso de ácido durante a reação de acidulação, o qual ocasiona o escurecimento da amostra.

4.2.1.1 Determinação da composição da cera saponificada e acidulada

Os álcoois presentes nas amostras foram analisados por cromatografia gasosa. A quantificação dos teores de álcoois foi realizada considerando que todos os álcoois apresentam o mesmo fator de resposta ao detector que o octacosanol. Sendo assim, foi construída uma curva de calibração utilizando-se o álcool C18 como padrão interno.

A Figura 7 apresenta a curva padrão construída para quantificação de álcoois graxos.

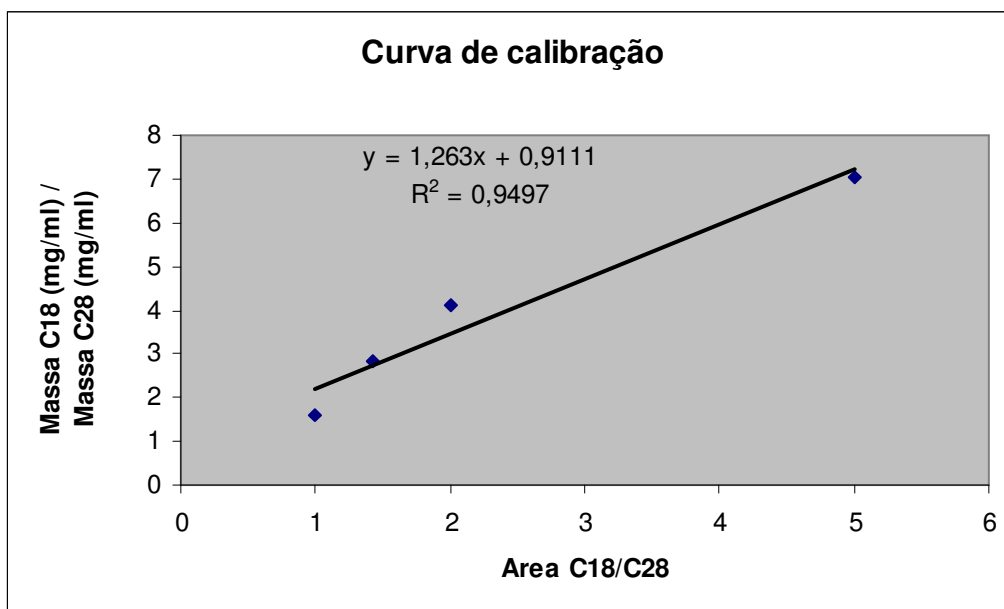


Figura 7. Curva de calibração construída para a quantificação dos álcoois presentes nas amostras de cera de cana-de-açúcar.

Através dos dados obtidos, pode-se obter a curva de calibração que se apresentou linear na faixa estudada, obtendo coeficiente de correlação no valor de $R=0,9497$. A equação $Y = 1,263 X + 0,9111$, onde Y é a relação de massa entre o álcool C18 e o álcool C28 e x é a relação de áreas entre estes dois componentes, indica uma correlação adequada.

Através dos processos realizados, pode-se obter resultados os quais mostraram que as composições em álcoois graxos da cera clarificada e purificada e da cera saponificada e acidulada são próximas, pois houve um ligeiro aumento no teor de álcoois, porém, tal variação foi desconsiderada por não ser significativa estatisticamente.

A amostra já acidulada apresentou rendimento de 89%, apresentando teor de álcoois de $34 \pm 1,1\%$, enquanto a cera purificada, sem nenhum tratamento, apresentou teor de $30,5 \pm 0,9\%$.

A Figura 8 apresenta o cromatograma da cera saponificada e acidulada

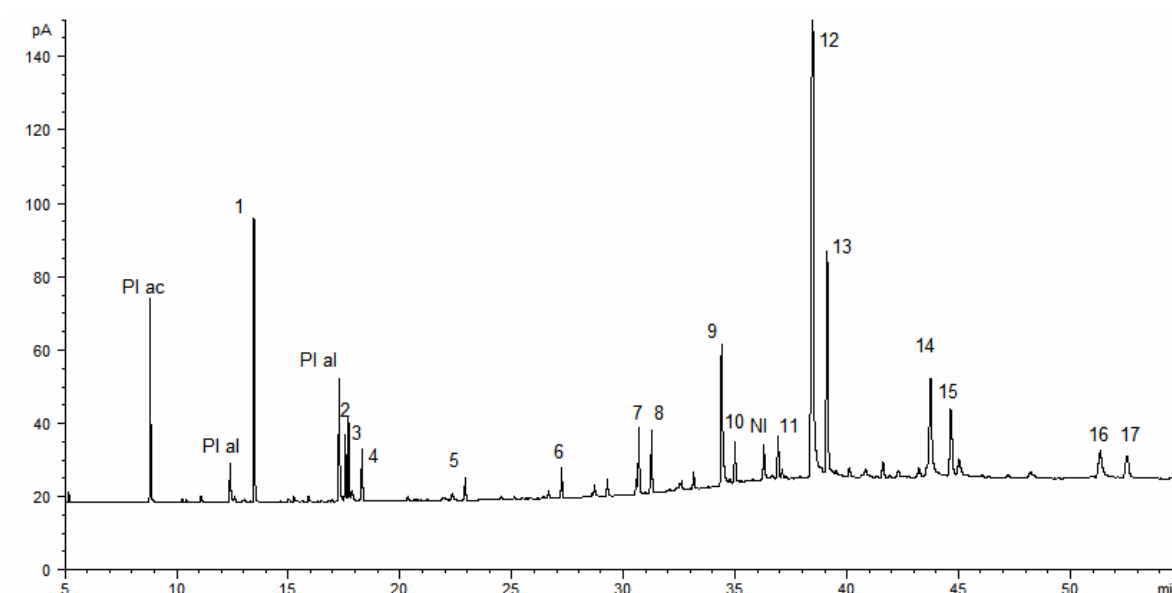


Figura 8. Cromatograma da cera de cana-de-açúcar saponificada e acidulada. PI ac: ácido mirístico; PI al: álcool C16 e C18; 1: ácido palmítico (C16); 2: ácido linolênico (C18:3); 3: ácidos linoléico (C18:2) e oléico (C18:1); 4: ácido esteárico (C18:0); 5: ácido eicosanóico (C20:0); 6: ácido docosanóico (C22:0); 7: álcool tetracosanol (C24); 8: ácido tetracosanóico (C24:0); 9: álcool hexacosanol (C26); 10: ácido hexacosanóico (C26:0); 11: álcool heptacosanol (C27); NI: pico não identificado; 12: álcool octacosanol (C28); 13: ácido octacosanóico (C28:0); 14: álcool triacontanol (C30); 15: ácido triacontanóico (C30:0); 16: álcool dotriacontanol (C32); 17: ácido dotriacontanóico (C32:0).

4.2.2 Processo para obtenção dos concentrados com solução salina e etanol a quente

O processo utilizando solução salina e etanol a quente não apresentou resultados adequados, sendo inviável defini-lo como processo para concentração dos álcoois graxos.

Quanto a aplicação da solução salina, houve separação em duas fases na etapa de resfriamento a 10°C, e foi possível a realização da primeira etapa de filtração. Segundo Marques (2004), citado por Rosário (2006), 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.

Porém, após a aplicação de etanol a quente, na etapa de resfriamento da mistura, não foi observada a formação de duas fases, sendo inviável o processo de filtração e, portanto, de separação das fases.

Com isso, optou-se por testar a substituição de etanol a quente por etanol a frio, com sistema de agitação constante, uma vez que foi observado por Rosário (2006) que a mistura de álcoois de cadeia longa são insolúveis em etanol a frio e, acreditando-se portanto, que a solução de ácidos graxos seja solúvel nesta solução e temperatura (10°C).

4.2.3 Processo para obtenção dos concentrados com solução salina e etanol a frio

Através do processo utilizando solução salina e etanol a frio, foram analisados os dois produtos resultantes: o concentrado de álcoois graxos (2º precipitado), seguido de secagem em estufa, e o concentrado de ácidos graxos,

proveniente da 2ª solução filtrada (a qual foi evaporado o excesso de etanol, decorrente do processo de lavagem da amostra, seguido de secagem em estufa à 60°C).

A mistura de ácidos apresentou um rendimento de 10%, enquanto a mistura de álcoois, 87%, ambos com relação ao peso inicial da cera saponificada e acidulada. Os resultados de rendimento se mostraram satisfatórios, porém, o concentrado de álcoois graxos apresentou teor de álcoois de **40 ± 0,66%**, não chegando ao resultado esperado que era de 50%.

Em função do resultado apresentado no processo anterior, optou-se por testar um processo com lavagem direta de etanol a frio, ou seja, sem a lavagem com solução salina.

4.2.4 Processo para obtenção dos concentrados com etanol a frio direto

No processo utilizando lavagem com etanol a frio, o resultado apresentado pelo concentrado em álcoois graxos foi menor, apresentando teor de álcoois de **34 ± 0,75%**.

O concentrado de ácidos graxos apresentou rendimento de 15%, enquanto o concentrado de álcoois graxos foi de 83%. Muito embora, o rendimento do concentrado em álcoois graxos seja alto, sua concentração não corresponde com o objetivo de concentração próxima de 50%.

Devido ao resultado apresentado, optou-se por uma alternativa que é a lavagem da amostra com água quente em substituição a lavagem com solução salina, citado em processos anteriores.

4.2.5 Processo para obtenção dos concentrados com água quente e etanol a frio

No processo utilizando água quente e etanol a frio, os rendimentos foram 16% e 80% para os concentrados de ácidos graxos e álcoois graxos, respectivamente. O teor de álcoois encontrado foi de $41 \pm 0,83\%$, para a relação cera:etanol 1:10.

O processo com lavagem com água quente apresentou resultado bem similar ao processo com solução salina, porém a utilização de água é considerado mais viável economicamente.

4.2.5.1 Determinação da relação cera:água na lavagem com água quente (T° ebulição)

Em todos os processos o peso da amostra inicial foi de 2,5g de amostra de cera saponificada e acidulada. Nos cinco processos aplicados, houve uma média de variação de 0,4 g entre o início e o fim da lavagem com água.

A Tabela 13 apresenta os resultados para o teor de álcoois graxos no concentrado.

Tabela 13. Teores de álcoois graxos no concentrado a partir das relações cera:água

Relação cera:água	Teor álcoois *
1:2	41%
1:5	43%
1:7,5	40%
1:10	41%
1:15	38%

* Cada valor é a média de 2 repetições.

Como pode-se observar, os teores de álcoois obtiveram pequena variação, portanto o processo mais indicado seria a lavagem da cera na relação 1:2, cera:água, por se tratar de um processo economicamente mais viável.

Foram testadas também diversas temperaturas de processo, porém a temperatura mais indicada foi a de ebulição da água, pois quanto menor a temperatura maiores problemas no manuseio da amostra, devido á solidificação da amostra, uma vez que o ponto de ebulição da cera é muito alto (75°C).

A Figura 9 apresenta o cromatograma do concentrado de álcoois graxos após lavagem com água quente na relação cera : água 1:2.

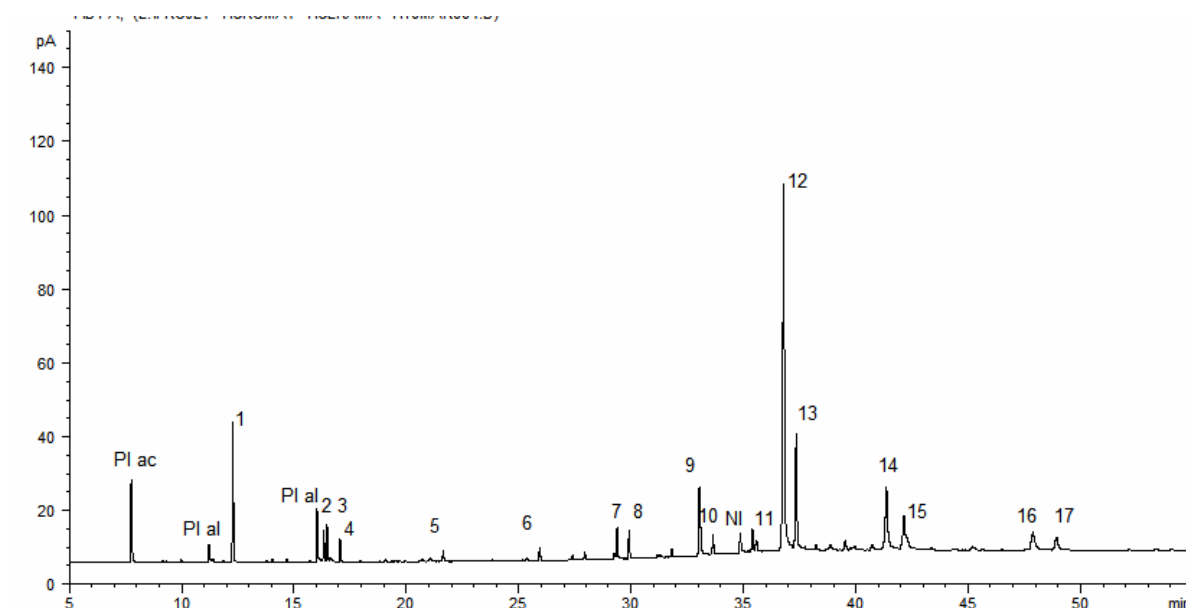


Figura 9. Cromatograma do concentrado de **álcoois graxos** da cera lavada com água quente. PI ac: ácido mirístico; PI al: álcool C16 e C18; 1: ácido palmítico (C16); 2: ácido linolênico (C18:3); 3: ácidos linoléico (C18:2) e oléico (C18:1); 4: ácido esteárico (C18:0); 5: ácido eicosanóico (C20:0); 6: ácido docosanóico (C22:0); 7: álcool tetracosanol (C24); 8: ácido tetracosanóico (C24:0); 9: álcool hexacosanol (C26); 10: ácido hexacosanóico (C26:0); 11: álcool heptacosanol (C27); NI: pico não identificado; 12: álcool octacosanol (C28); 13: ácido octacosanóico (C28:0); 14: álcool triacontanol (C30); 15: ácido triacontanóico (C30:0); 16: álcool dotriacontanol (C32); 17: ácido dotriacontanóico (C32:0).

4.2.5.2 Determinação da relação cera:álcool no processo de lavagem com etanol a frio

Para a otimização do processo de lavagem da amostra com etanol a frio, foram testados diferentes relações cera:etanol, dentre elas 1:5, 1:10, 1:15, 1:20, 1:30. Foram mantidas a mesma temperatura (10°C) e tempo de lavagem (1 hora) em um primeiro momento.

Na Tabela 14 são mostrados os resultados obtidos, os quais não apresentaram diferenças significativas em relações maiores de 1:10.

Tabela 14. Teores de álcoois graxos no concentrado a partir das relações cera:etanol

Relação cera:etanol	Teor álcoois *
1:5	52%
1:10	68%
1:15	67%
1:20	67,3%
1:30	68,2%

* Cada valor é a média de 2 repetições.

Os resultados pouco variaram entre si, sendo que a relação 1:5 foi a que apresentou menor teor de álcool, pouco diferenciando da amostra lavada apenas com água e, além disso, trata-se de um processo muito difícil para se realizar (pouco solvente para a quantidade de cera utilizada). Em trabalho desenvolvido anteriormente, Rosário (2006) estudou a separação da mistura de álcoois da cera purificada e saponificada com solução salina 10% e etanol a quente e obteve um produto com concentração de 50% de álcoois, resultado inferior ao obtido neste trabalho.

A Figura 10 apresenta o cromatograma do concentrado de álcoois graxos, obtido da cera clarificada e purificada e lavada com água quente na relação cera:água 1:2, seguida da lavagem com etanol a frio na relação cera:etanol 1:10, temperatura de 10°C e tempo de reação de 1 hora.

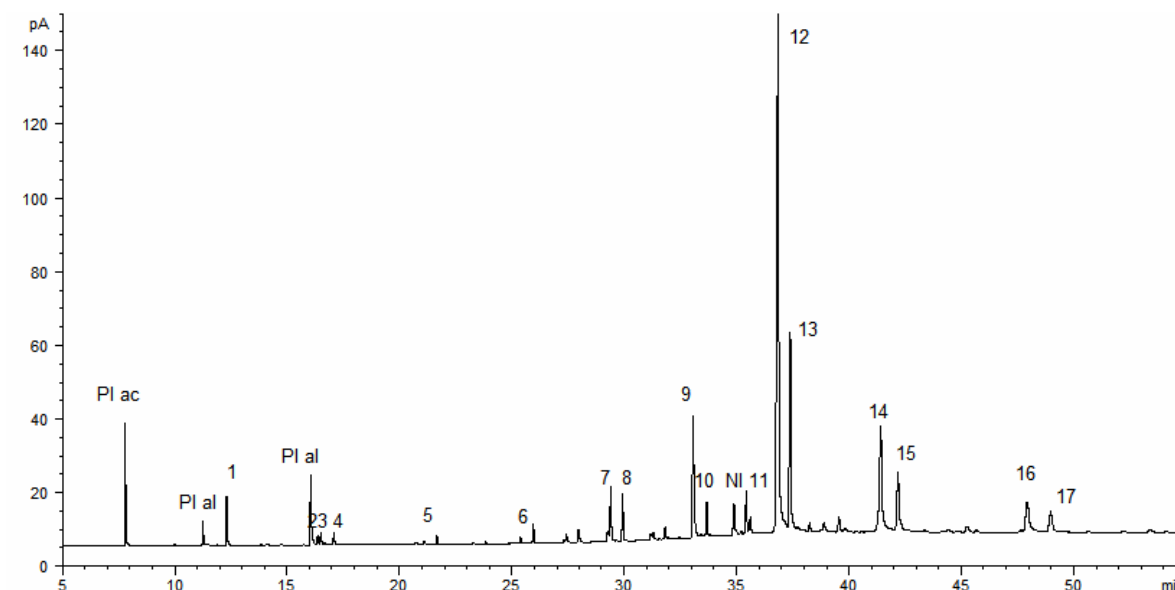


Figura 10. Cromatograma dos concentrado de **álcoois graxos** da cera lavada com água quente e etanol frio. PI ac: ácido mirístico; PI al: álcool C16 e C18; 1: ácido palmítico (C16); 2: ácido linolênico (C18:3); 3: ácidos linoléico (C18:2) e oléico (C18:1); 4: ácido esteárico (C18:0); 5: ácido eicosanóico (C20:0); 6: ácido docosanóico (C22:0); 7: álcool tetracosanol (C24); 8: ácido tetracosanóico (C24:0); 9: álcool hexacosanol (C26); 10: ácido hexacosanóico (C26:0); 11: álcool heptacosanol (C27); NI: pico não identificado; 12: álcool octacosanol (C28); 13: ácido octacosanóico (C28:0); 14: álcool triacontanol (C30); 15: ácido triacontanóico (C30:0); 16: álcool dotriacontanol (C32); 17: ácido dotriacontanóico (C32:0).

Na Figura 11 apresenta-se o cromatograma do concentrado de ácidos graxos, obtido do mesmo processo em questão. A composição do concentrado de ácidos graxos assemelha-se a fração D-003, definida como a mistura de ácidos graxos saturados de cadeia longa (C16 – C32), isolados e purificados da cera de cana-de-açúcar (GAMEZ, 2000; CARBAJAL, 2003; ARRUZAZABALA, 2004), como pode ser demonstrado no cromatograma a seguir .

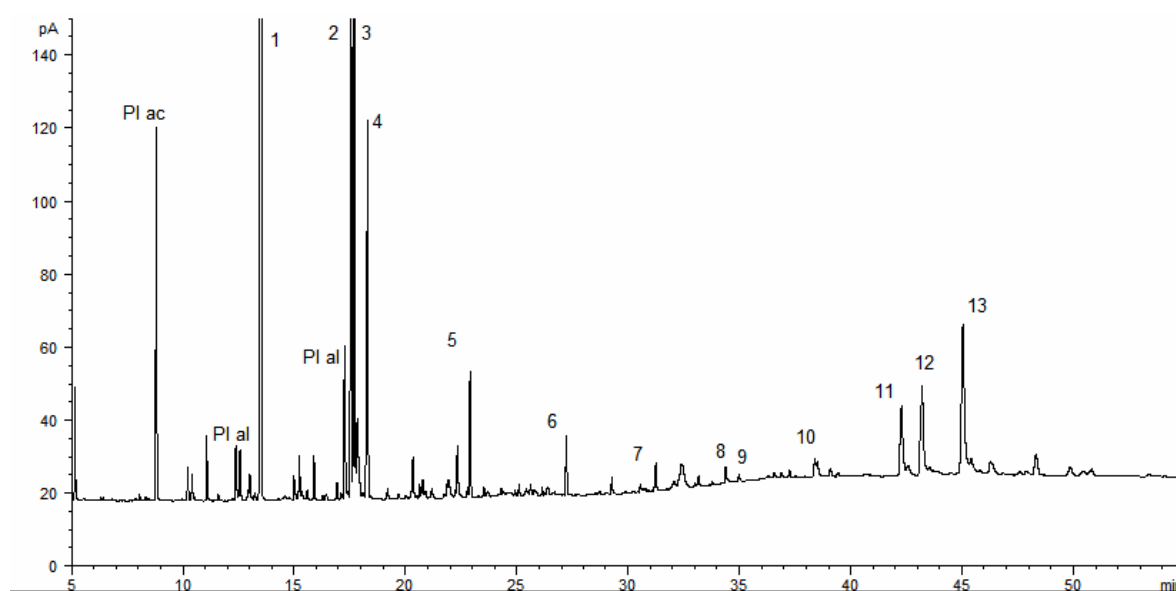


Figura 11. Cromatograma do concentrado de **ácidos graxos** da cera lavada com água quente e etanol a frio. PI ac: ácido mirístico; PI al: álcool C16 e C18; 1: ácido palmítico (C16); 2: ácido linolênico (C18:3); 3: ácidos linoléico (C18:2) e oléico (C18:1); 4: ácido esteárico (C18:0); 5: ácido eicosanóico (C20:0); 6: ácido docosanóico (C22:0); 7: álcool tetracosanol (C24); 8: álcool hexacosanol (C26); 9: ácido hexacosanóico (C26:0); 10: álcool heptacosanol (C27); 11: álcool octacosanol (C28); 12: ácido octacosanóico (C28:0); 13: ácido triacontanóico (C30:0).

4.3 Purificação do concentrado de álcoois graxos

4.3.1 Lavagem com acetona

Primeiramente foi testado a lavagem com acetona diretamente na amostra saponificada e acidulada, obtendo resultado não satisfatório de concentração de álcoois de 38%. Mesmo repetindo o processo (2ª lavagem) sob a amostra anterior, o resultado não se alterou.

Definido o processo de lavagem da amostra inicialmente com água quente e seguido da lavagem com etanol a frio, foi testado o processo de purificação com acetona para a obtenção de um produto de alta pureza (próximo de 90% de álcoois graxos, similar ao produto já existente no mercado).

O processo de lavagem com acetona também passou por otimização da relação cera:acetona. A melhor relação conseguida foi de 1:30 (cera:acetona), pois relações inferiores a esta, o processo se tornava inviável (pouco solvente para a quantidade de cera utilizada) e, maiores, o resultado não se alterava, como demonstra a Tabela 15.

Tabela 15. Teores de álcoois graxos no produto purificado obtido com acetona

Relação cera : acetona	Teor álcoois *
1:10	-
1:20	-
1:30	88%
1:40	87,3%
1:50	88,1%

* Cada valor é a média de 2 repetições.

A Figura 12 apresenta o cromatograma do concentrado de álcoois graxos lavado com acetona, na relação 1:30.

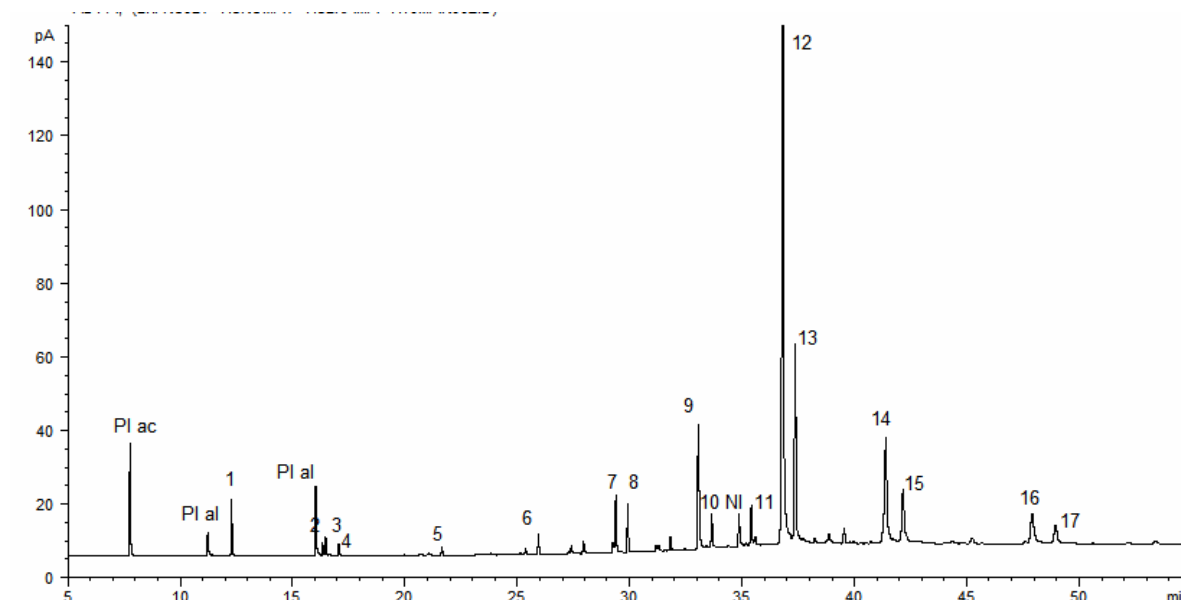


Figura 12. Cromatograma do concentrado de **álcoois graxos** da cera após lavagem com acetona. PI ac: ácido mirístico; PI al: álcool C16 e C18; 1: ácido palmítico (C16); 2: ácido linolênico (C18:3); 3: ácidos linoléico (C18:2) e oléico (C18:1); 4: ácido esteárico (C18:0); 5: ácido eicosanóico (C20:0); 6: ácido docosanóico (C22:0); 7: álcool tetracosanol (C24); 8: ácido tetracosanóico (C24:0); 9: álcool hexacosanol (C26); 10: ácido hexacosanóico (C26:0); 11: álcool heptacosanol (C27); NI: pico não identificado; 12: álcool octacosanol (C28); 13: ácido octacosanóico (C28:0); 14: álcool triacontanol (C30); 15: ácido triacontanóico (C30:0); 16: álcool dotriacontanol (C32); 17: ácido dotriacontanóico (C32:0).

Através dos resultados demonstrados, pode-se observar que o tratamento com acetona do concentrado de álcoois graxos, obtido pelo processo de lavagem com água e álcool a frio da cera saponificada e acidulada, apresentou um teor de álcoois graxos de **88 ± 1,2 %**. Rosário (2006), trabalhando com cera purificada, alcançou valor de 92,3% de álcoois livres, a partir do mesmo processo de extração

com acetona e partindo de um produto com concentração de 50% de álcoois livres. Já Granja (1997; 1999), utilizou cera bruta ou purificada para extração da mistura de álcoois através de extração sólido-líquido com solventes diversos, obteve rendimentos que variaram de 13% a 27,4% e teor de álcoois livres de 92,72% a 94,34%.

5. Conclusões

O processo proposto para a obtenção de concentrados de álcoois graxos de cadeia longa a partir de cera de cana de açúcar, envolvendo as etapas de saponificação, acidulação, concentração e purificação, mostrou-se viável tecnicamente.

O processo de concentração utilizando água quente e etanol a frio obteve duas frações a fração solúvel, corresponde a um concentrado de ácidos graxos (D-003) e, a fração insolúvel, correspondente a álcoois graxos (policosanol).

A fração álcool graxo apresentou concentração de 68%, o qual quando purificado com acetona atingiu 88%, resultado similar ao produto já existente no mercado, com concentração de 90% (Policosanol®).

Para a fração ácido graxo (D-003), estudos adicionais sobre o processo de obtenção e concentração serão necessários.

Referências Bibliográficas

ADAMENAS, J. O negócio é fazer cera. **Química e Derivados**, p. 24-29, 1982.

ALEMAN, C.L.; MÁS, R.; HERNÁNDEZ, C. A 12 months study of policosanol oral toxicity in Sprague-Dawley rats. **Toxicology Letters**, v.70, n.1, p.77-87, 1994.

AOCS – AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. **Official Methods and Recommend Practices**. 4. ed. Champaign: AOCS Press. 1993, 1997, 1998, 2002.

ARRUZAZABALA, M.L., MOLINA, V., CARBAJAL, D., MAS R. D-003 and warfarin interaction on the bleeding time and venous thrombosis experimentally induced in rats. **J Med Food**, 2004. Summer; 7(2):260-3.

ARRUZAZABALA, M. L.; CARBAJAL, D.; MÁS, R.; MOLINA, V.; VALDÉS, S.; LAGUNA, A. Cholesterol lowering effects of policosanol in rabbits. **Biological Research**, v.27, n.3-4, p.205-208, 1994.

ARRUZAZABALA, M. L., VALDÉS, S. , MÁS, R., FERNANDEZ, L., CARBAJAL, D. Effect of policosanol successive dose increases on platelet aggregation in healthy volunteers. **Pharmacological Research**, Vol. 34, No. 5/6, 1996.

ARRUZAZABALA, M.L., NOA, M., MENÉNDEZ, R., MÁS, R., CARBAJAL, D., VALDÉS, S., MOLINA, V. Protective effect of policosanol on atherosclerotic lesions in rabbits with exogenous hypercholesterolemia. **Brazilian Journal of Medical and Biological Reserarch** (2000) 33:835-840

ASTM – AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. Standard test methods for needle penetration of petroleum waxes. **Annual Book of ASTM Standards**, 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.

AZZAM, A. M. Separation and analysis of wax from Egyptian sugar cane filter press cake. **Fette Seifen Anstrichmittel**, v.86, n.6, p.247-250, 1984.

BALCH, R. T. The lipids of sugarcane. In: HONIG, P. **Principles de Sugar Technology**. New York: Elsevier Publishing Company, v.1, cap.7, p.196-213, 1953.

BANCO DE DADOS DE BIOMASSA, Disponível em: [http://infoener.iee.usp.br/scripts/biomassa/br_cana.asp] Acesso em 25 de Setembro de 2006.

BEEHARRY, R. P., Extended sugarcane biomass utilisation for exportable electricity production in Mauritius. **Biomass and Bioenergy**, Vol. I, n. 6, p. 44-449, 1996.

BENITEZ, M., ROMERO, C., MÁS, R., FERNANDEZ, L., FERNANDEZ, J. C. A comparative study of policosanol versus pravastatin in patients with type ii hypercholesterolemia. **Current Therapeutic Research**. Vol. 58, No. 11, Novembro 1997.

BERNASCONI, R., Bolzacchini, E., Galliani, G., Gugliersi, F., Rindone, B., Rindone, M., Tacconi, M. T., Terraneo, A. Determination of the content of wax esters in some sea foods and their molecular composition. A comparison with o-3 enriched wax esters. Published by Elsevier Ltd. on behalf of **Swiss Society of Food Science and Technology**. Italy: 2006.

BUTTAR, G. S.; PARMAR, S. S.; SINGH, K. An efficacious protocol of wax extraction from filter cake of sugar industry and its chemical analysis. In: 61ST **Annual Convention Of The Sugar Technologists' Association Of India**, New Delhi, 1999. Proceedings. New Delhi: The Sugar Technologists' Association of India, 1999. p. 40-44.

CARBAJAL, D., ARRUZAZABALA, M.L., NOA, M., MOLINA, V., MÁS, R., ARANGO, E., VALDÉS S., GONZALEZ, J.E. Protective effect of D-003 on experimental spinal cord ischemia in rabbits. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids** 70 (2004) 1–6

CARVALHO, L. C. C. Cana pede demanda. **STAB – Açúcar, Álcool e Subprodutos**, v.16, n.3, p.6-7, 1998.

CASTAÑO, G.; NODARSE, M.; MÁS R. Comparaciones de los efectos del policosanol y la lovastatina en pacientes con hipercolesterolemia primaria tipo II. **Revista CENIC de Ciencias Biológicas**, v.27, p.57-63, 1996.

CHRISTIE, W. W. Waxes: **Structure, Composition, Occurrence and Analysis**. Dundee: Scottish Crop Research Institute, 2003. Disponível na internet: <http://www.lipidlibrary.co.uk/Lipids/waxes/file.pdf>. Acesso em setembro de 2007.

CHRISTIE, W. W. **Lipid Analysis – Isolation, Separation, Identification and Structural Analysis of Lipids**. 2. ed. Oxford: Pergamon Press, 1982. 207p.

COSTA, M. R. J. **Ultrafiltração do caldo filtrado de lodo decantado da usina açucareira**. 2002. 101p. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

CRAUER, L. S. Continuous recovery of acid oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v.42, p.661-663, 1965.

CRESPO, N.; ILLNAIT, J.; MÁZ, R.; FERNÁNDEZ, L.; FERNÁNDEZ, 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 Clinical Pharmacologic Research**, v.4, n.19, p.117-127, 1999.

DOMÍNGUES, E.; HEREDIA, A. Waxes: a forgotten topic in lipid teaching. **Biochemical Education**, v.26, p.315-316, 1998.

FNP CONSULTORIA & AGRO-INFORMATIVO. **AGRIANUAL 2004**: Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo, 2003. 496p.

FRUTUOSO, E. S. **Extração, refinação e estudo das propriedades termodinâmicas de cera de cana-de-açúcar**. 1989. 65p. Dissertação (Mestre em Ciências) – Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

GAMEZ, R.; RODEIRO, I.; FERNANDEZ, I.; ACOSTA, P. L. Preliminary evaluation of the cytotoxic and genotoxic potential of D-003: mixture of very long chain fatty acids. **Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis**, v.22, p.175-181, 2002.

GAMEZ, R., MÁZ, R., NOA, M., MENDENDEZ, R., ALEMÁN C., ACOSTA, P., GARCIA, H., HERNÁNDEZ, C., AMOR, AM., PÉREZ, J., GOICOCHEA, E. Acute and oral subchronic toxicity of D-003 in rats. **Toxicology Letters**: 118 (2000) 31–41.

GANDRA, K. M. **Obtenção e caracterização de cera de cana-de-açúcar e suas frações**. 2006. 168p. Tese (Mestrado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

GARCÍA, A.; GARCÍA, M. A.; RIBAS, M.; BROWN, A. Recuperación de cera de cutícula de caña de azúcar mediante separación mecánica y extracción con solventes. **Grasa y Aceites**, v.54, n.2, p.169-174, 2003.

GARCÍA, A. G.; RODRÍGUEZ, G. B.; TÍO, M. V. Cera refinada de torta. In: **Manual dos derivados de cana-de-açúcar (ICIDCA)**. Brasília: ABIPTI, 1999. p.399-404.

GARCÍA, A.; TÍO, M. V.; ALVAREZ, A. Cera de cachaza. Desarrollo actual y perspectivas. In: **Subproductos y derivados de la agroindustria azucarera**. México, Geplacea, 1988. p. 315-327.

GEOCITIES, Disponível em [<http://br.geocities.com/atine50/cana/cana.htm>] Acesso em 01 de Novembro de 2006.

GOUNI-BERTHOLD, I. & BERTHOLD, H. Policosanol: Clinical pharmacology and therapeutic significance of a new lipid-lowering agent. **American Heart Journal** (2002) Vol. 143, No. 2.

GRAILLE, J.; BAREA, B.; BARRERA-ARELLANO, D.; VIEIRA, T. M. F. S.; MAHLER, B. **Caracterização analítica da cera de cana-de-açúcar para seu uso cosmético**. Cirad-Amis Agroalimentaire, 2003. Disponível na internet: <http://www.cirad.org.br/br/recherche/506br.html>. Acesso em setembro de 2007.

GREENER-DONHOWE, I.; FENNEMA, O. Water vapor and oxygen permeability of wax films. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.70, n.9, p.867-873, 1993

GUNSTONE, F. D.; HARWOOD, J. L.; PADLEY, F. B. **The Lipid Handbook**. 1 ed., Chapman and Hall, New York, 1986, 571 p.

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, 2000.

HAMILTON, R. J. Analysis of Waxes. In: HAMILTON, R. J. **Waxes: Chemistry, Molecular Biology and Functions**. Dundee: Oily Press, 1995. Chap.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**. Department of Foods and Nutrition and Department of Pharmaceutical and Biomedical Sciences, University of Georgia, Athens, Georgia, 2003.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v.22, n.8, p.475-476, 1973.

HATT, H. H.; STRASSER, P. H. A.; TROYAHN, W. J. Refining and Bleaching of Sugar Cane Wax. **U. S. Patent 2.640.841**, 02/06/1953.

HERNANDEZ, E.; BAKER, R. A. Candelilla wax emulsion, preparation and stability. **Journal of Food Science**, v.56, n.5, p.1392-1387, 1991.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2005. Disponível em [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/default.shtm] Acesso em maio de 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.

IRMAK. S.; DUNFORD. N. T.; CUPPETT, S. L.; MILLIGAN, J. Policosanol contents and beeswax, sugar cane and wheat extracts. **Food Chemistry**, v.95, p.312-318, 2005.

JACOMINO, A. P; OJEDA, R. M.; KLUNGE, R. A.; FILHO, J. A. S. Conservação de goiabas tratadas com emulsões de cera de carnaúba. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.60, n.3, p.401-405, 1983.

KRELL, R. Value added products from beekeeping. Fao Agricultural Services Bulletin, n. 124, 1996. Disponível em: [www.fao.org/docrep/w0076e/w0076e13.htm] Acesso em maio de 2007.

LAGUNA, A. G.; CARVAJAL, D. H.; GARCÍA, M. M.; MAGRANER, J. H.; ARRUZAZABALA, M. L. V.; MÁS, R. F. Policonasol, una mezcla de alcoholes alifáticos primarios superiores para el tratamiento de complicaciones atereoescleróticas tales como la hiperagregabilidad plaquetaria, loa accidents isquémicos, trombosis e incluso su efectividad contra úlceras gástricas quimicamente inducidas y su proceso de obtención de la caña. **Patente Cubana CU 22229A1**, 1996.

LAGUNA GRANJA, A.; HERNÁNDEZ, M.; QUINTANA, D. C.; VALMANA, L. A.; FERREIRO, R. M.; MESA, M. G. Mixture of higher primary aliphatic alcohols, its obtention from sugar cane wax and its pharmaceutical uses. **U. S. Patent 5.856.316**, 1999.

LAMBERTON, J. A.; REDCLIFFE, A. H. The chemistry of sugar-cane wax. **Australian Journal Chemistry**, v.13, p.261-268, 1959.

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, pp. 89-114.

LUTZ, H.; ESUOSO, K.; KUTUBUDDIN, M.; BAYER, E. Low temperature conversion of Sugar-Cane by-products. **Biomass and Bioenergy**, v.15, n.2, p.155-162, 1998.

MAG, T. K., GREEN, D. H.; KWONG, A. T. Continuous acidulation of soapstock and recovery of acid oil. **Journal of the American Oil Chemists` Society**, Champaign, v.60, n.5, p.1008-1011, 1983.

MANOHAR RAO, P.J. Industrial utilization of sugarcane and its co-products, ISPCK Publishers and Distributors, Delhi-India, 1997.

MARQUES, M. P. **Preparação e reatividade dos Álcoois**. Trabalhos Práticos, Tecnologia Bioquímica I, Departamento de Bioquímica, FCTUC, 2004. Disponível em [<http://www.uc.pt/bioquimica/discipli/seb05.pdf>] Acesso em maio de 2007.

MARTUCCI, E. T. **Tecnologia do açúcar de cana**. Fundação de Pesquisas e Tecnologia, 1983, 243 p.

MATTHIES, L. Natural montan wax and its raffinates. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.103, n.2, p.239-248, 2001.

MCLOUD, E. S. Sugar Cane Refining. **U. S. Patent 2.456.641**. 21/12/1948

MEDSCAPE, **Effects of D-003 on the Lipid Profile of Patients with Type II Hypercholesterolaemia: A Phase II Clinical Study**. Disponível em [http://www.medscape.com/content/2003/00/46/65/466513/466513_tab.html] Acesso em 04 maio de 2007.

MELCHANG, S.; WEAVER, R.W.; PANICHSACPATANA, S. Co-composting of filter cake and bagasse; by-products from a sugar mill. **Bioresourse Technology**, v. 96, p. 437-432, 2004.

MENDONÇA, C. G. **Características das superfícies foliares de algumas plantas daninhas e estudo da absorção e translocação de 2,4-D em *Memora peregrina* (Miers) Sandwith**. 2004. 91p. Tese (Doutor em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

MINAZ (Ministerio del Azúcar). Informe sobre la refinación de cera de cachaza en Cuba. **Dirección de derivados**. La Habana, p. 13, 1980.

MOLINA, V., ARRUZAZABALA, M.L., CARBAJAL, D., MÁZ, R., VALDÉS, S. Antiplatelet and antithrombotic effect of d-003. **Pharmacological Research**, Vol. 42, No. 2, 2000

MOLINA, V., ARRUZAZABALA, M.L., CARBAJAL, D., MÁ, S. R. D-003, a potential antithrombotic compound isolated from sugar cane wax with effects on arachidonic acid metabolites. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential FattyAcids** (2002) 67(1),19-24

MUÑOZ, D. H. **Las Ceras: Introducción y Aplicaciones**. IBERCERAS, 2005. Disponível na internet: <http://www.iberceras.com/paginas/documentacion.htm>. Acesso maio de 2007.

NEGRI, G.; MARCUCCI, M. C.; SALATINO, A.; SALATINO, M. L. F. Comb and propolis waxes from Brazil (States of São Paulo and Paraná). **Journal of Brazilian Chemistry Society**, v.11, n.5, p.453-457, 2000.

NOA, M., MÁ, S. R., MESA, R. A comparative study of policosanol vs lovastatin on intimal thickening in rabbit cuffed carotid artery. **Pharmacological Research**, Vol. 43, No. 1, 2001

NUISSIER, G.; BOURGEOIS, P.; GRIGNON-DUBOIS, M.; PARDON, P.; LESCURE, M. H. Composition of sugarcane waxes in rum factory wastes. **Phytochemistry**, v.61, p.721-726, 2002. Disponível na internet: <http://www.elsevier.com/locate/phytochem>

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, pp. 1-36.

PATTISON, E. S. **Industrial Fatty Acids and their Applications**. Reinhold Publishing Corporation: New York, 1959.

PATURAU, J. M. **By-products of the Cane Sugar Industry**. New York: Elsevier Publishing Company, 1969. 274p.

PATURAU, M. **The sugar cane, its by-products and co-products**. Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius, 1998.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G.S. **Introduction to Organic Laboratory Techniques**. Orlando: Saunders College Publishing, 3^o ed., 1988.

PEPPING, J. Policosanol. **American Journal Health-System Pharmacy**, v.60, n.1, p.1112-1115, 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, pp.1-19.

PHUKAN, A. C., BORUAH, R. K. Extraction and evaluation of microcrystalline wax from press mud waste of the sugar industry. **Separation and Purification Technology**, v.17, p.189-194, 1999. Disponível na internet: <http://www.elsevier.com/locate/seppur>. Acesso em setembro de 2007.

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, 1987.

PORTAL UNICA, Disponível em
[http://www.unica.com.br/pages/agroindustria_alta.asp] Acesso em novembro 2006.

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.

RED, J. F. P.; ILAGAN-JR, J. B. **Fatty acid recovery from soapstock.** US Patent 4118407. Oct., 3, 1978.

RODRIGUEZ, M. D.; SANCHEZ, M.; GARCIA, H. Multigeneration reproduction study of policosanol in rats. **Toxicology Letters.** v.90, n.2-3, p.97-106, 1997.

RODRIGUEZ, M. D.; GARCIA, H. Evaluation of peri- and post-natal toxicity of policosanol in rats. **Teratogenesis Carcinogenesis and Mutagenesis**, v.18, n.1, p.1-7, 1998.

RODRIGUEZ, M.D., GAMEZ R., GONZALEZ J.E., GARCIA H., ACOSTA C.P., GOICOCHEA, E.. Lack of developmental toxicity of D-003: a mixture of long-chain fatty acids in rats. **Food Chem Toxicol**, 2003. Jan;41(1):89-93.

ROSÁRIO, C. H. R. **Desenvolvimento de um processo para a obtenção de policosanol a partir de cera de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*).** 2006. 113p. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

SCAVARIELLO, E.M.S. **Modificação química e enzimática da borra de neutralização do óleo de farelo de arroz.** 2002. 143p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

SCAVARIELLO, E.M.S. & BARRERA-ARELLANO. Optimización del proceso de acidulación de la borra de neutralización del aceite de salvado de arroz. **Grasas y Aceites**, 55(2): 155-159, 2004.

SONNTAG, N. O. V. Fat splitting and glycerol recovery. In: JOHNSON, R.W.; FRITZ, E. **Fatty Acids in Industry**. New York: Marcel Dekker, Inc., 1989. cap.2, p.23-72.

STUCHLIK, M.; ZAK, S. Vegetable lipids as components of functional foods. **Biomedical Papers**, v.146, n.2, p.3-10, 2002.

SUNDE, C. J.; RICHEV JR, T. B. Process for producing wool wax alcohols and fatty acids. **U.S. Patent 3,526,647**. 01/09/1970.

SWERN, D. Refining and Bleaching. In: SWERN, D. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**. 4.ed. New Youk: J. Wiley and Sons, 1982, v.2, cap.4, p.253-314.

TAYLOR, A. K. From raw sugar to raw materials. **Chemical Innovations**, November 45-48, 2000.

TAYLOR, J. C.; RAPPORT, L.; LOCKWOOD, G. B. Octacosanol in human health. **Nutrition**, v.19, n.2, p.192-195, 2003.

TRUTER, E. V. **Wool Wax: Chemistry and Technology**. London: Cleaver-Hume, 1950, 368 p.

VALIX, M. G. Food grad wax and process for preparing same. **US Patent 0076732A1**, 2004.

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 (Doutorado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

VILLAR, J.; GARCÍA, M. A.; GARCÍA, A.; MANGANELLY, E. Crude wax extraction from filter cake in stirred tank. **International Sugar Journal**, v.107, n.1277, p.308-311, 2005.

WARTH, A. H. **The Chemistry and Technology of Waxes.** New York: Reinhold Publishing Corporation, 1947. 519p.

WATSON, K.S.; HOEFER, M. Use or disposal of by-products and spent material from the vegetable oil processing industry in the U.S. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.53, n.5, p.437-442, 1976.

WELLER, C. L.; GENNADIOS, E.; SARAIVA, R. A. Edible bilayer films from zein and grain sorghum wax or carnauba wax. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 31, n.3, p.279-285, 1998.

WOERFEL, J.B. Alternatives for processing of soapstock. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v.60, n.2, p.262-265, 1983.

WOERFEL, J. B. Soybean oil processing byproducts and their utilization. In: ERICKSON, D.R. **Practical Handbook of soybean Processing and Utilization.** Champaign: AOCS Press, 1995. cap.17, p.297-313.