

**CAMILA SANTOS DE OLIVEIRA**

**CIRCUITO FLUIDO-DINÂMICO UTILIZANDO BOMBA E INJETOR  
VENTURI PARA A OZONIZAÇÃO DO ÓLEO DE GIRASSOL,  
ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA.**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**MESTRADO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU**

**São José dos Campos, setembro/2022**

**UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI**

**CAMILA SANTOS DE OLIVEIRA**

**CIRCUITO FLUIDO-DINÂMICO UTILIZANDO BOMBA E INJETOR VENTURI  
PARA A OZONIZAÇÃO DO ÓLEO DE GIRASSOL, ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICA  
E MICROBIOLÓGICA.**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação  
Stricto Sensu em Engenharia Biomédica – Mestrado, da  
Universidade Anhembi Morumbi, como requisito parcial  
para obtenção do título de Mestre em Engenharia  
Biomédica

Orientador: Prof. Dr Carlos José de Lima

Co-orientadora: Profa Dra. Adriana Barrinha Fernandes Moretti

**São José dos Campos, setembro/2022**

**UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI**

**CAMILA SANTOS DE OLIVEIRA**

**CIRCUITO FLUIDO-DINÂMICO UTILIZANDO BOMBA E INJETOR VENTURI  
PARA A OZONIZAÇÃO DO ÓLEO DE GIRASSOL, ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICA  
E MICROBIOLÓGICA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação  
Stricto Sensu em Engenharia Biomédica – Mestrado, da  
Universidade Anhembi Morumbi, como requisito parcial  
para obtenção do título de Mestre em Engenharia  
Biomédica aprovada pela seguinte Banca Examinadora:

**Prof. Dr. Carlos José de Lima**

Orientador

Mestrado em Engenharia Biomédica

Universidade Anhembi Morumbi

**Prof<sup>a</sup>. Dra. Adriana Barrinha Fernandes Moretti**

Universidade Anhembi Morumbi

**Prof<sup>a</sup>. Dra. Túlia de Souza Botelho Almeida**

Universidade Anhembi Morumbi

**Prof. Dr. Renato Amaro Zangaro**

Universidade Anhembi Morumbi

**São José dos Campos, setembro/2022**

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da Universidade, do autor e do orientador.

### **CAMILA SANTOS DE OLIVEIRA**

Graduada em Bacharel em Enfermagem pela Universidade de Taubaté, SP – UNITAU, 2000. Pós-graduada em Docência para o Ensino Superior pela Faculdade de Pinhais, pós-graduada em Auditoria dos Serviços de Saúde pela Universidade Cruzeiro do Sul, pós-graduada em Urgência e Emergência e Unidade de Terapia Intensiva pela Universidade Prominas, pós-graduada em Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana pela Fiocruz, Mestranda em Engenharia Biomédica pela Universidade Anhembi Morumbi.

### **Ficha Bibliográfica elaborada pela biblioteca UAM com os dados fornecidos pela autora**

O45c Oliveira, Camila Santos de  
Circuito fluido-dinâmico utilizando bomba e injetor venturi para Ozonização do óleo de girassol, análises físico-química e microbiológica / Camila Santos de Oliveira. – 2022.  
42f.: 30 cm.

Orientador: Dr. Carlos José de Lima.  
Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Universidade Anhembi Morumbi, São Paulo, 2022.  
Bibliografia: f. 35-39.

1. Engenharia Biomédica. 2. Ozônio. 3. Difusor. 4. Injetor Venturi.  
5. Oleo Ozonizado. I. Título.

CDD 610.28

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho a minha mãe (em memória) que lutou incansavelmente para me proporcionar uma vida melhor através dos estudos, e me mostrou diariamente que desistir nunca é uma opção.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me proporcionar força e por ter uma fé inabalável.

Agradeço a minha filha, Maria Julia, por todo apoio e incentivo nos momentos mais desafiadores. Sou grata por cada palavra de estímulo, por todo encorajamento quando não existiam mais forças, e admito que sem ela não teria conseguido. Tenho muito orgulho pelas vezes que precisei me ausentar por horas, dias, e além de cuidar dos estudos próprios da sua idade, abraçou a causa e preencheu cada vazio dos afazeres que deixei a desejar a favor da pesquisa. É imensurável e indescritível o amor que tenho por ela, razão de absolutamente tudo.

Ao meu orientador Carlos José de Lima, pela paciência, e por tanta destreza e didática em explicar quantas vezes fossem necessárias. É infinita minha gratidão por todo ensinamento, e pelo acolhimento em todos os momentos vivenciados durante a execução do trabalho. Nunca irei esquecer de como se preocupou em ser empático para conduzir tudo do início ao fim.

A minha co-orientadora Adriana Barrinha Fernandes Moretti, pelos experimentos riquíssimos vivenciados no laboratório e por todo conhecimento compartilhado.

A minha grande amiga Catarina, que foi a chave de tudo, para abrir o caminho do estudo no Mestrado, agradeço pela pro-atividade, pela pronta resposta e por sempre caminhar ao meu lado com sinceridade e leveza.

A minha amiga Melissa, pela sinergia, construímos uma amizade sólida e sincera que irá além deste trabalho.

Ao Milton, pela acessibilidade constante, a qual foi primordial para a finalização deste estudo.

A todos os professores da Pós-Graduação de Engenharia Biomédica da Universidade Anhembi Morumbi, meu muito obrigada.

A secretaria da pós-graduação, em especial à Nidia, que me recebeu brilhantemente com um sorriso acolhedor.

E por fim, agradeço demais a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), pelo apoio financeiro deste.

## RESUMO

O óleo de girassol ozonizado é protagonizado como uma substância constituída em parte de compostos denominados ozonídeos, trata-se de um produto proveniente de um processo de oxidação desse óleo vegetal, a qual normalmente é realizado pelo método de borbulhamento utilizando um difusor para a inserção do gás ozônio por um tempo determinado. O óleo ozonizado pode ser utilizado em diversas aplicações das quais abrange principalmente na dermatologia. Em termos de ozonização de água para fins de desinfecção e potabilização, o método mais utilizado é protagonizado pelo processo de circuito hidráulico fechado utilizando bomba e injetor Venturi, esse procedimento em comparação com o borbulhamento usando o difusor apresenta maior eficiência em termos da diluição do ozônio na água. O objetivo deste estudo foi de realizar a ozonização do óleo de girassol, utilizando o método fluido-dinâmico fechado com bombeamento e infusão de ozônio usando injetor Venturi, e constatar sua capacidade de gerar ozonídeos. Posteriormente verificar a eficácia da geração destes compostos na sua equivalência com o protocolo tradicional de borbulhamento com difusor. Como metodologia foram realizados protocolos de ozonização de óleo de girassol, pelos métodos de difusão com peça de aço inox poroso sinterizado (com e sem 10% de água), e o circuito fechado fluido-dinâmico com bombeamento e injetor Venturi (também com e sem 10% de água). Foram realizadas análises físico-químicas dos óleos ozonizados, as quais são viscosidade, pH, índice de iodo, e de peróxidos. Foi também realizado experimento de avaliação microbiológica pelo método de halo de inibição (antibiograma), e finalmente foram providenciadas análises utilizando a espectroscopia infravermelha. Todos os parâmetros já citados e avaliados, indicaram que o método de ozonização do óleo de girassol, apresentou capacidade de produzir os compostos ozonídeos com o uso do injetor Venturi com e sem a adição de água.

**Palavras-chave:** Ozônio; Difusor; Injetor Venturi; Óleo Ozonizado.

# FLUIDDYNAMIC CIRCUIT USING PUMP AND VENTURI INJECTOR FOR OZONATION SUNFLOWER OIL, PHYSICAL-CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL ANALYSIS

## ABSTRACT

The ozonized sunflower oil is characterized as a substance consisting in part of compounds called ozonides, it is a product from an oxidation process of this vegetable oil, which is normally carried out by the bubbling method using a diffuser for the insertion of the ozone gas for a specified time. Ozonated oil can be used in various applications which mainly cover dermatology. In terms of ozonation of water for disinfection and potability purposes, the most used method is carried out by the closed hydraulic circuit process using Venturi injector, this procedure compared to bubbling with a diffuser presents greater efficiency in terms of the dilution of ozone in the water. The objective of this study was to perform the ozonation of sunflower oil, using the closed fluid dynamic method with pumping and infusion of ozone using Venturi injector, and to verify its ability to generate ozonides. Subsequently verify the effectiveness of the generation of these compounds in their equivalence with the traditional protocol of bubbling with diffuser. As a methodology, sunflower oil ozonation protocols were carried out, using diffusion methods with a sintered porous stainless-steel piece (with and without 10% water), and the fluid dynamic closed circuit with pumping and Venturi valve (also with and without 10% water). Physical-chemical measurements of ozonized oils were performed, which are viscosity, acidity, iodine, peroxides and pH. A microbiological evaluation experiment was also carried out by the inhibition halo method (antibiogram), and finally analyzes were provided using infrared spectroscopy. All parameters already mentioned and evaluated indicated that the sunflower oil ozonation method was able to produce ozonide compounds using a Venturi valve with and without the addition of water.

**Keywords:** Ozone; Diffuser; Venturi Injector; Ozonized Oil.

# SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 OBJETIVO.....	14
2.1 Objetivo geral.....	14
2.2 Objetivo específico.....	14
2.3 Justificativa.....	14
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	14
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
4.1 Tipo de estudo e local.....	21
4.2 População e amostra.....	21
4.3 Equipamentos utilizados.....	21
4.4 Coleta de dados.....	21
4.4.1 Ozonização do óleo de girassol método reator coluna de borbulhamento....	21
4.4.2 Ozonização do óleo de girassol método injeção Venturi.....	22
4.4.3 Análise Físico-Química.....	23
4.4.4 Análise Microbiológica.....	23
4.4.5 Caracterização do óleo por espectroscopia infravermelha.....	26
5 RESULTADOS.....	27
5.1 Procedimento de ozonização do óleo de girassol.....	27
5.2 Análise Físico-Química.....	27
5.3 Análise Microbiológica.....	29
5.4 Caracterização do óleo por espectroscopia infravermelha.....	30
6 DISCUSSÃO.....	31
7 CONCLUSÃO.....	35
8 REFERÊNCIAS.....	36
Anexo 1.....	41
Anexo 2.....	42

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Representação esquemática da montagem de um gerador de ozônio.16
- Figura 2 – Processo de ozonização do óleo através do sistema reator coluna de borbulhamento (BCR).....18
- Figura 3 – Processo de ozonização do óleo através do método circuito fluido-dinâmico com injetor Venturi.....23
- Figura 4 – Imagens representando o protocolo de microbiológica quantitativa pelo método halo de inibição.....26
- Figura 5 – Análise quantitativa microbiológica utilizando a técnica do halo de inibição, os microrganismos utilizados foram o *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) e *Escherichia coli* (*E. coli*).....29
- Figura 6 - Espectros infravermelhos de absorção dos óleos de girassol ozonizados, os métodos envolveram um com o uso do reator coluna de borbulhamento, e o outro utilizando um circuito fluido-dinâmico com bomba e injetor Venturi para a inserção do gás ozônio.....30
- Figura 7 – Espectro infravermelho de amostras do óleo de girassol ozonizados pelos métodos reator coluna de borbulhamento (BCR), e circuito fluido-dinâmico com bomba e injetor Venturi (Vent.), ambos com adição de 10% de água.....31

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 – Parâmetros físico-químicos dos óleos de girassol ozonizados.....	28
---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

O <sub>2</sub>	Oxigênio
O <sub>3</sub>	Ozônio
FT-IR	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier
BCR	Reator Coluna de Borbulhamento
OFR	Ozone Feed Rate (Taxa de Alimentação de Ozônio)
II	Índice de Iodo
IP	Índice de Peróxido
Ph	Potencial de Hidrogênio
g	Gramas
mg	Miligramas
L	Litro
mL	Mililitros
µL	Microlitros
mEq	Miliequivalente
AOD	Applied Ozone Dosage (Dose Aplicada de Ozônio)
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
Vent.	Venturi
H <sub>2</sub> O	Água
OG	Óleo de girassol
OGO <sub>3</sub>	Óleo de girassol ozonizado
OGO <sub>3</sub> V	Óleo de girassol ozonizado pelo método Venturi
OGO <sub>3</sub> H <sub>2</sub> O	Óleo de girassol ozonizado com água
OGO <sub>3</sub> VH <sub>2</sub> O	Óleo de girassol ozonizado pelo método Venturi com água
UAM	Universidade Anhembi Morumbi
CITÉ	Parque Tecnológico de São José dos Campos, SP

## 1 INTRODUÇÃO

Ozônio é um gás natural presente na atmosfera terrestre, sua função basicamente é de reter parte da radiação ultravioleta proveniente do sol, permitindo desta maneira a presença de vida na superfície do planeta (BALAKRISHNAN; ARUNAGIRI; RAO, 2002).

O gás ozônio pode ser sintetizado através de dispositivos reatores com o uso de matéria prima oxigênio, esse fluido ozônio apresenta propriedades microbicida e bioestimulantes (SILVA *et al.*, 2011). O gás ozônio pode ser utilizado em diversas aplicações, abrangendo desde a potabilização da água até em situações clínicas de tratamento de patologias e lesões, neste sentido, este gás deverá ser gerado em tempo real com uso de gerador, ou seja, numa situação real não é um produto de armazenamento (ALMEIDA *et al.*, 2004).

Na prática em termos de gerar subprodutos de característica similares ao ozônio mas que possam ser armazenados em condições adequadas, utiliza-se óleos vegetais submetidos ao processo de ozonização, o qual produz compostos com propriedades semelhantes ao do gás ozônio, ou seja, características microbicida e bioestimulante (TRAVAGLI *et al.*, 2010; MONTEVECCHI *et al.*, 2013).

Em geral o processo de ozonização do óleo vegetal é realizado através da utilização de um sistema denominado reator coluna de borbulhamento, este aparato é usado para permitir a gaseificação de líquidos, ou seja, transferir através de borbulhamento, usando peças porosas, transferência de gás ao meio líquido, a coluna por apresentar altura elevada do nível do líquido, garante maior tempo de contato da bolha. Este processo de reator coluna de borbulhamento é o mesmo para ozonização do óleo, tradicionalmente envolve o uso de uma peça porosa, para o borbulhamento do gás ozônio junto ao óleo, para isto é utilizado um utensílio poroso (sinterizado) de aço inoxidável o qual permite a produção de bolhas de tamanho pequeno, permitindo assim maior transferência do ozônio ao fluido líquido (BOCCI, 2011).

A intenção deste estudo foi de desenvolver uma nova metodologia para ozonização do óleo vegetal, neste sentido o trabalho a ser realizado envolveu a

utilização de um aparato com circuito fluido-dinâmico fechado para inserção do gás ozônio ao óleo vegetal.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Constatar se o método de ozonização do óleo vegetal girassol via circuito fluido-dinâmico com bomba e injetor Venturi, apresenta a capacidade de gerar ozonídeos.

### **2.2 Objetivo específico**

Verificar se esse método de ozonização do óleo de girassol, apresenta eficácia de produção de ozonídeos equivalentes ao protocolo tradicional utilizando o sistema de reator coluna de borbulhamento.

### **2.3 Justificativa**

O método tradicional de incorporação de gás ozônio em fluidos é realizado a partir de um difusor. A técnica pelo método Venturi é um fenômeno de transferência de massa alternativo que tem a capacidade de incorporar maior concentração de moléculas de ozônio em fluidos (gás/líquido) mostrando, assim, maior eficácia comparado ao método convencional. É sabido da literatura que a transferência de massa de ozônio em água é até 6 vezes mais eficiente se utilizado o método Venturi, comparado ao processo convencional. Uma das vantagens de se ozonizar óleo de girassol, está no fato de poder ser armazenado por um longo período. Neste estudo, foi utilizado o óleo de girassol, uma vez que este óleo vegetal ozonizado é empregado na ozonioterapia.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

A fabricação dos óleos vegetais em geral englobam etapas que se estabelecem desde a sua extração, prensagem até o estágio de refinação a qual estabelece seu grau de purificação para fins de consumo humano (MANDARINO, J.M.G., *et al*). Para o controle de qualidade do óleo vegetal produzido, algumas análises físico-químico são estabelecidas por normas fiscalizatórias, a fim de garantir confiabilidade, qualidade e segurança para o consumo, dentre estas técnicas ressaltamos a avaliação da viscosidade, a verificação de parâmetros químicos pela técnica da titulação, as quais podemos citar a análise do pH, o índice de iodo, bem como também a quantificação de peróxidos presentes (LIMA, J. R; GONÇALVES, A. G; 1994). Outras técnicas mais elaboradas que podem apresentar detalhes em termos de compostos presentes no óleo vegetal, envolvem a cromatografia gasosa ou líquida, bem como também a espectroscopia óptica no infravermelho (SORIANO *et al.*, 2003)

O ozônio é um gás muito reativo que é encontrado naturalmente na troposfera superior, camada de ozônio, a cerca de 20 a 25 quilômetros de altitude. Este gás desempenha um papel importante na absorção da radiação ultravioleta do sol, que é muito prejudicial à saúde humana (BALAKRISHMAN; ARUNAGIRI; RAO, 2002).

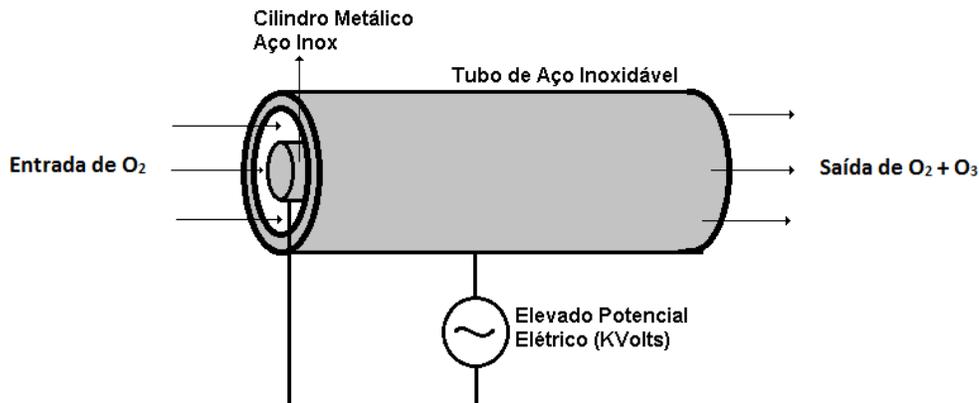
Em seu estado gasoso, além de ser altamente oxidante, é facilmente solúvel em água, essas características fazem do ozônio uma poderoso substância usada como desinfetante (SILVA *et al.*, 2011). O ozônio é conhecido como o segundo mais poderoso agente oxidante, que pode ser utilizado em escala para aplicações em tratamento de água e esgoto, sendo adotado por diversos países em milhares de sistemas de tratamento de efluentes e água potável (SCHIAVON *et al.*, 2012).

O ozônio (O<sub>3</sub>) pode ser produzido naturalmente pela ação da tempestade atmosférica com a presença de descargas elétricas no ar. Este fluxo de elétrons produz a dissociação das moléculas de oxigênio, resultando na formação de dois átomos íons oxidantes. Estas duas partículas instáveis podem se combinar com outras moléculas de oxigênio, resultando na geração das moléculas de ozônio. Outra forma de produção natural do ozônio, é pela ação fotoquímica dos raios

ultravioleta (~260nm) sobre as moléculas de oxigênio ( $O_2$ ) na estratosfera, esta radiação contém energia suficiente para separar os dois átomos que compõem a molécula de  $O_2$ , produzindo assim íons reagentes que podem recombinar com moléculas de  $O_2$ , culminando na formação do  $O_3$  (ROSADO, 2014).

O  $O_3$  possui três formas para ser produzido, por eletrólise, pela ação da radiação ultravioleta e descarga corona. Nos geradores comerciais, o ozônio é produzido principalmente por descarga corona, a qual realmente também produz a emissão de radiação ultravioleta, com a passagem de fluido oxigênio neste meio, há a geração de ozônio. Assim a descarga elétrica do tipo corona é o método mais utilizado para se obter ozônio em quantidades significativas, devido a maior taxa de conversão do oxigênio em ozônio. Neste método, o ozônio é gerado pela passagem de ar (previamente tratado) ou oxigênio puro entre dois eletrodos metálicos, figura 1, separados também por um material dielétrico, e submetidos a uma elevada diferença de potencial elétrico em milhares de Volts (ALMEIDA *et al.*, 2004).

**Figura 1. Representação esquemática da montagem de um gerador de ozônio, constituído por um reator polarizado eletricamente com elevado potencial elétrico em KVolts, produzindo o gás ozônio por efeito corona.**



Técnicamente a concentração de gás ozônio produzida pode ser especificado em gramas por metro cúbico ( $g/m^3$ ), ou miligramas por litro ( $mg/L$ ), ou ainda microgramas por mililitros ( $\mu g/ml$ ). O tempo de exposição deste gás é especificado normalmente em minutos, e a dosagem é estabelecida pelo produto da concentração de ozônio na saída do gerador com a vazão de oxigênio na entrada

desse mesmo, em seguida é multiplicado pelo tempo em minutos de exposição dividido pela massa, volume ou superfície da amostra. (“ozone feed rate”) (taxa de alimentação de ozônio) (VAN LEEUWEN, 2015).

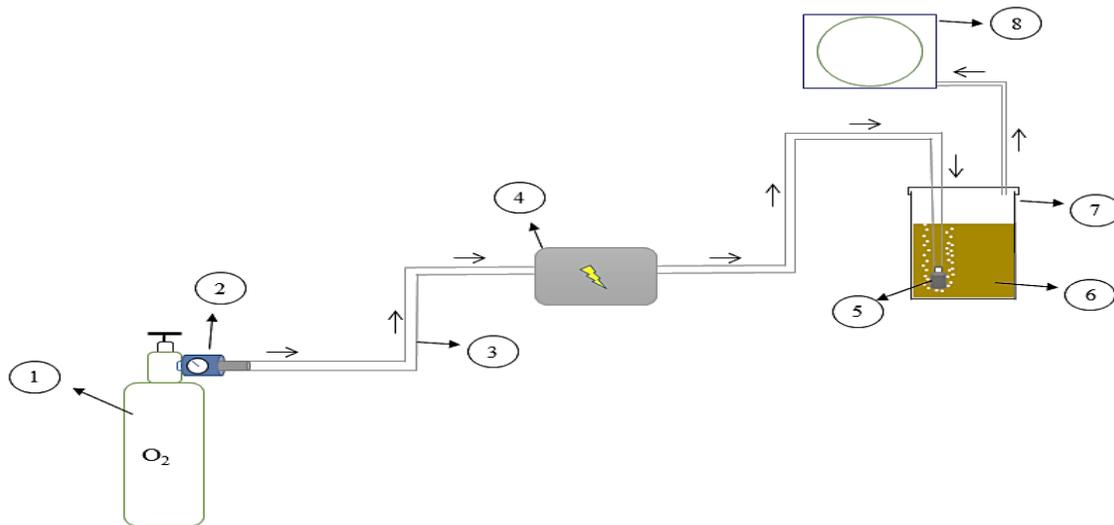
O O<sub>3</sub> pode ser utilizado sob a forma de gás, diluído em água e veículos aquosos, ou ainda incorporados em óleos como oliva e girassol (BOCCI *et al.*, 2009). Devido à instabilidade do O<sub>3</sub> e sua toxicidade, os óleos vegetais têm se mostrado muito úteis na ozônioterapia, com a vantagem de permitir seu armazenamento por longo período, e têm se mostrado mais seguros (DIAZ, 2006).

Quando o óleo girassol ou azeite é ozonizado, uma série de subprodutos são formados, incluindo peróxidos que possuem propriedades bactericidas, tornando-os úteis no tratamento de feridas infectadas, fístulas e outros processos de sepse localizada. (MENENDEZ *et al.*, 2002). Além disso, esses peróxidos desempenham uma variedade de funções no organismo, incluindo: estimulação de vários sistemas oxidorreductase, possivelmente afetando o transporte de oxigênio para os tecidos e a cadeia respiratória mitocondrial; bloqueio de receptores virais e morte de células infectadas por vírus; sinergia de capacidade fagocitária (SKALSKA *et al.*, 2008).

Em estudo foram analisadas alterações nas propriedades químicas de óleos vegetais com cinco diferentes composições de ácidos graxos, os resultados das análises dos óleos de oliva, girassol, canola, milho e semente de uva, mostraram que o óleo de girassol foi inicialmente mais rico em iodo, o que foi associado a níveis mais altos de ácidos graxos insaturados, especialmente ácidos graxos poliinsaturados. A análise do valor de peróxido foi relacionada à reação do ozônio nas duplas ligações carbono-carbono proveniente de ácidos graxos insaturados, simultaneamente resultando no aumento dos ozonídeos durante a ozonização, isso foi constatado em se relacionando com os óleos de oliva e girassol (TRAVAGLI, V., *et al.*, 2010)

A obtenção do óleo ozonizado é feita comumente por meio do borbulhamento do gás através de um difusor (peça porosa) imerso em óleo dentro de um recipiente, figura 2, este método é bastante utilizado na prática clínica e na ozônioterapia (SCHWARTZ *et al.*, 2010). De fato, esse processo recebe uma

denominação técnica especificada como reator coluna de borbulhamento (“bubble column reactor”, BCR), em que o recipiente que armazena o líquido a ser gaseificado, apresenta uma secção transversal relativamente pequena, resultando numa altura de líquido significativa, dessa maneira, com a injeção de gás no fundo do reservatório utilizando uma peça porosa difusora, as bolhas do gás de pequeno tamanho, tem maior tempo de exposição a fase líquida, aumento assim a eficiência na transferência do gás.



**Figura 2. Processo de ozonização do óleo através do sistema reator coluna de borbulhamento (BCR). (1) Cilindro de Oxigênio  $O_2$ , (2) Válvula reguladora de fluxo e pressão, (3) Tubo de silicone 3/8 de diâmetro externo, (4) Gerador de ozônio, (5) peça sinterizada (Difusor) de aço inoxidável, (6) Óleo de girassol, (7) Reservatório, (8) Exaustor para descartar o excedente de ozônio.**

A capacidade dos microrganismos de desenvolverem resistência microbiana é um problema de saúde global, porque as infecções causadas por isolados multirresistentes estão associadas ao aumento de custos, tempo de hospitalização e taxas de morbidade e mortalidade (EVANS *et al.*, 2007). A prescrição excessiva de antibióticos tem sido um grande problema por muitos anos. O surgimento de cepas bacterianas multirresistentes, resistentes a dois ou mais antibióticos, levou pesquisadores a avaliar o potencial de produtos naturais como agentes antimicrobianos (UGAZIO *et al.*, 2020).

O uso da ozonioterapia na área médica tem sido utilizada há muitos anos através de tecnologias inovadoras que surgem para aprimorar novas técnicas a todo momento. O óleo ozonizado tem sido protagonista por intermédio de estudos que evidenciam sua ação microbicida trazendo um tratamento alternativo para diversas patologias crônicas (VAROL *et al.*, 2017).

O ozônio elimina os microrganismos agindo na parede celular e na membrana semipermeável. Isso leva a mudanças na estrutura química da célula e interfere na troca de produtos do metabolismo celular com o meio ambiente. Além disso, causa a desintegração do encapsulamento do microrganismo levando ao extravasamento do conteúdo celular. Os efeitos benéficos do O<sub>3</sub> na cicatrização de feridas podem ser devidos à diminuição da infecção bacteriana, melhora na cicatrização de feridas dérmicas ou aumento da taxa de regressão de ferida devido a exposição ao O<sub>3</sub> na área lesada. (DÍAZ *et al.*, 2009; VALACCHI *et al.*, 2012; VALACCHI, FORTINO e BOCCI 2005).

Na última década, a terapia com ozônio foi aprimorada usando óleos insaturados ozonizados para várias aplicações clínicas em dermatologia, ginecologia e oftalmologia. Como o gás ozônio rapidamente se torna instável na atmosfera, a ozonização de óleos vegetais causa o processo de oxidação gerando produtos compostos que apresentam propriedades microbicida e cicatrizante. A ozonização sob condições variadas de óleos vegetais como girassol, oliva, canola e coco tem sido estudada (DÍAZ *et al.*, 2009; OMONOV, KHARRAZ e CURTIS 2011; SADOWSKA *et al.*, 2008; Valacchi *et al.*, 2011).

Os óleos vegetais ozonizados têm sido estudados por sua atividade antimicrobiana (GEWEELY 2006; MONTEVECCHI *et al.*, 2013). No entanto, a pesquisa sobre a atividade antimicrobiana desses produtos tem sido dificultada pela falta de métodos de triagem *in vitro* padronizados e confiáveis. As maiores dificuldades associadas à triagem desses produtos são a viscosidade do óleo, que dificulta a obtenção de uma dispersão estável do óleo em meio aquoso e a difusão dos componentes lipofílicos do óleo através do ágar (LIMA, 2018).

A produção da ozonização em óleos vegetais ocorre pelo processo de oxidação do O<sub>3</sub>, o qual o íon reativo liberado irá reagir com os componentes

moleculares que constituem o óleo, neste sentido, há a produção de peróxidos lipídicos e hidroperóxidos, em que estes apresentam propriedades similares ao ozônio como efeitos microbicida e bioestimulante (SILVA *et al.*, 2011).

Além de sua capacidade de estimular a regeneração tecidual e oxigenar células e tecidos, os produtos derivados da ozonização de compostos insaturados, como terpenos, ácidos graxos, triglicerídeos e óleos vegetais também são conhecidos por terem propriedades germicidas. Compostos altamente oxigenados, como óleos vegetais ozonizados, tornam a pele mais macia, flexível e também são usados para preparar cremes para reparação do tecido epitelial. Isso sugere que os produtos gerados pelo O<sub>3</sub>, pode ser usado topicamente para tratar feridas na pele (TRAVAGLI *et al.*, 2010; VALACCHI, FORTINO e BOCCI 2005).

Além disso, foi demonstrado que o óleo ozonizado apresenta a mesma eficácia que o ácido hialurônico na redução dos sintomas de doenças da pele, como eritema, tensão, coceira e ardor relatados pelos pacientes (CAMPANATI *et al.*, 2013).

Também tradicionalmente para fins de potabilidade da água de consumo, a ozonização é realizada por um método fluido-dinâmico, a qual utiliza uma válvula de três vias denominada Venturi, trata-se de um método hidrodinâmico com a qual a água quando acessa a válvula, é confinada numa secção menor aumentando sua velocidade de escoamento, nesta região há uma terceira via de acesso em que o gás ozônio difunde com a água, sendo escoado na saída desse dispositivo pela terceira via. Esse processo de ozonização da água em comparação ao difusor apresenta maior eficiência em termos de incorporação do ozônio (CARVALHO, 2015).

A técnica de ozonização da água utilizando um circuito hidráulico com bomba e válvula injetora Venturi, apresenta maior eficiência em relação a transferência do ozônio ao fluido água, de fato, esse processo poderia ser utilizado para a ozonização do óleo vegetal (girassol), e observar se essa eficiência também ocorre para produzir os compostos ozonídeos benéficos na aplicação medicinal.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Tipo de estudo e local**

O presente estudo foi realizado de março a dezembro de 2021 no Laboratório de Biotecnologia, Desinfecção e Esterilização no Centro de Inovação, Tecnologia e Educação (CITÉ) Parque Tecnológico de São José dos Campos, SP.

### **4.2 População e Amostra**

Foi realizado um estudo experimental *in vitro* qualitativo e quantitativo a partir da produção de amostras de óleos de girassol ozonizado obtendo como resultados as análises dos parâmetros físico-químicos das amostras, espectroscopia infravermelha (FT-IR) e microbiológica.

### **4.3 Equipamentos utilizados**

Para a realização das análises espectroscópicas no infravermelho foi utilizado o espectrômetro do fabricante: *Perkin Elmer*, modelo: *Spectrum Frontier*. Para a medição da viscosidade foi utilizado o viscosímetro digital fabricante: Brookfield DV-I, modelo: LVDV-I. Já para os procedimentos de ozonização do óleo de girassol, foi usado o Gerador de Ozônio fabricante: Ozone & Life, modelo: 1.5M. A verificação do pH demandou o uso do instrumento Phmetro, fabricante: GEHAKA, modelo: PG3000.

### **4.4 Coleta de dados**

#### **4.4.1 Ozonização do óleo de girassol método reator coluna de borbulhamento**

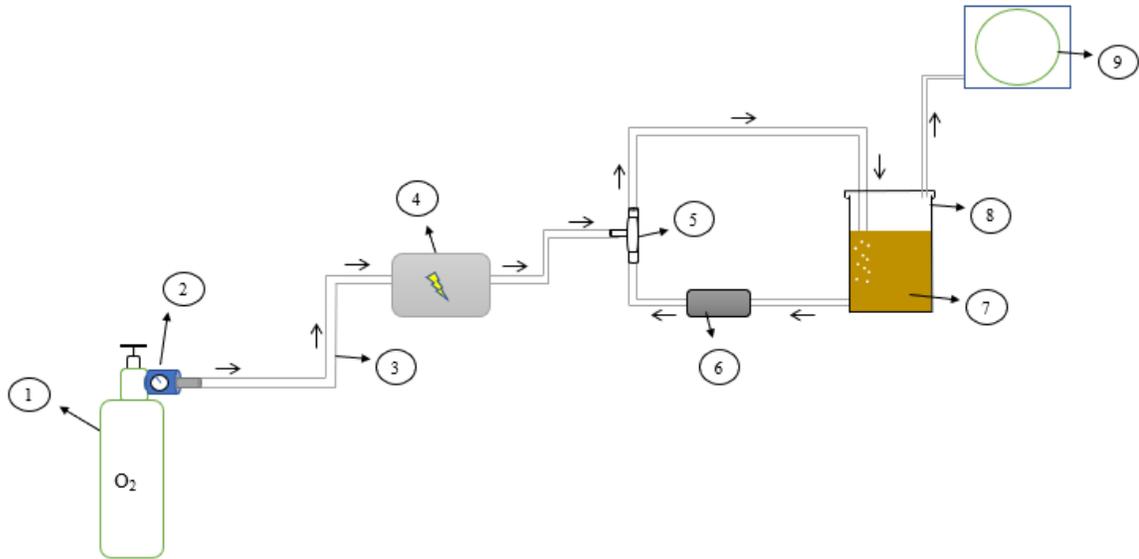
O óleo de girassol proveniente do estudo experimental, foi adquirido do comércio varejo, para a ozonização foi realizado a montagem do reator coluna de

borbulhamento (BCR), para isso 500 ml do óleo foi adicionado numa coluna de vidro com capacidade de 1 litro (~40 cm de altura), o nível do líquido atingiu o valor de aproximadamente 20 cm de altura, uma peça sinterizada de aço inoxidável foi posicionada ao fundo do recipiente coluna de vidro com o óleo, foi acoplada a essa peça um duto flexível de silicone, a qual em sua outra extremidade ficou conectado ao gerador de ozônio, esse equipamento foi alimentado por um cilindro de oxigênio, também acoplado a uma válvula reguladora de fluxo ajustada a uma vazão de 0,250 litro/minuto, a concentração de ozônio na saída foi estabelecida valendo 48 mg/L, atuando com um tempo de ozonização de 4 horas, esse procedimento foi realizado dentro de uma câmara com exaustor, a fim de dispersar os gases excedentes ao ambiente externo.

#### **4.4.2 Ozonização do óleo de girassol método injeção Venturi**

Foi realizado o procedimento de ozonização do óleo de girassol, utilizando um circuito fluido-dinâmico com bomba do tipo centrífuga, acoplada a uma válvula de três vias injetora Venturi, a montagem foi realizada conforme indica a Figura 3, em que revela o uso de um reservatório que armazenou 500 ml do óleo de girassol. Os parâmetros técnicos de ozonização foram repetidos conforme especificação já realizada do procedimento reator coluna de borbulhamento (BCR). Com o objetivo de manter a temperatura do óleo próxima ao ambiente de laboratório climatizado (20°C), a bomba centrífuga para produzir o escoamento forçado do óleo, foi polarizada eletricamente a 42% do seu valor nominal, nesta condição, a expectativa é que durante o procedimento de ozonização do óleo sua temperatura praticamente não excedesse com relação ao ambiente climatizado.

Com relação aos protocolos de ozonização reator coluna de borbulhamento e o sistema Venturi foram repetidos, com a diferença de que foi aditivado 10% de água em cada um deles, como potencial de maior eficiência na transferência de ozônio, nesta condição, ficou estabelecido o total de cinco grupos de óleos testes, que são o óleo pré ozonizado, o de reator coluna de borbulhamento, o de injetor Venturi, e os dois similares aos anteriores com a adição de 10% de água.



**Figura 3. Processo de ozonização do óleo através do método circuito fluido-dinâmico com injetor Venturi. (1) Cilindro de oxigênio, (2) Válvula para controle de fluxo de gás, (3) Mangueira de silicone, (4) Gerador de ozônio, (5) Válvula Venturi, (6) Bomba centrífuga, (7) Óleo de girassol, (8) Reservatório com tampa, (9) Descarte de excedente de ozônio para o meio externo.**

A dose de ozônio aplicada (*Applied Ozone Dosage*), fornecida pelo gerador de ozônio nos testes realizados, foi quantificada de acordo com as diretrizes apresentadas por van Leeuwen em 2015. O fluxo de oxigênio de entrada do gerador de ozônio foi equivalente a  $\frac{1}{4}$  L/min, e produziu na saída uma concentração de ozônio de 48 mg/L, ou seja, a taxa de alimentação de ozônio (*Ozone Feed Rate - OFR*) foi equivalente a  $OFR = 0,012\text{g/min}$ . A dosagem de ozônio aplicada ao óleo de girassol, portanto, consistiu no tempo de 240 minutos(4h) utilizados para transferir a máxima quantidade de ozônio no óleo com volume específico equivalente a 500 ml. Portanto, a dose de ozônio aplicada ao óleo de girassol foi equivalente a 5,76 g/L.

#### 4.4.3 Análise Físico-Química

Foi realizada a análise físico-química das amostras que consistiu em determinar o pH, a viscosidade, os índices iodo (II) e peróxido (IP).

A análise do pH das amostras foi avaliada a partir do instrumento Phmetro, (GEHAKA, modelo: PG3000), o qual foi inicialmente calibrado com soluções padrão e, posteriormente foi realizada a mensuração do nível de pH de cada amostra de óleo em triplicata.

A medida da viscosidade foi realizada utilizando o viscosímetro digital (Brookfield DV-I Modelo LVDV-I) com suporte, no reservatório deste instrumento foi necessário a adição de 400ml do óleo, a medida foi realizada cinco vezes considerando o mesmo líquido. O índice de iodo (II) estabelecido por um processo de análise química de titulação, indicou a quantidade de iodo capaz de reagir com ligações duplas de carbono para saturação dos ácidos graxos não saturados em 100 gramas de óleo. O procedimento químico para a verificação dos índices de peróxido envolve um protocolo de titulação, a qual realizando a reação com diferentes substâncias, permite a obtenção do resultado quantitativo em termos de mili equivalente por quilograma (mEq/Kg) do óleo processado. Esses procedimentos laboratoriais via titulação química, está especificado segundo relato na referência Farmacopéia Européia 6.0, sob o código 01/2008:20505 para índice de peróxido. Para cada parâmetro avaliado, foram elaboradas três medidas (triplicata) das quais permitiu a obtenção estatística de média, desvio padrão e erro de incerteza.

#### 4.4.4 Análise Microbiológica

Para análise microbiológica foram utilizadas cepas microbianas, como *Staphilococcus aureus* (*S. aureus*) (ATCC-CCCD-S013), *Escherichia coli* (*E. coli*) (CCCD: E008) e *Candida albicans* (*C. albicans*) (CCCD: CC001) cultivadas em meios sólidos como ágar TSA, para gram positivas e negativas e ágar Sabouraud para levedura. O preparo dos meios de cultura ocorreu de acordo com as instruções

do fabricante, em seguida distribuídas em placas de petri dentro de uma capela, previamente desinfetada, para esfriamento e solidificação do preparo. Posteriormente, duas destas placas foram armazenadas em estufa à 37°C e analisadas após 24h e 48h, utilizadas como controle. O restante das placas ficaram armazenadas em geladeira em temperatura entre 2 e 8°C, onde permaneceram até serem utilizadas em temperatura ambiente de laboratório a 25°C, na sequência foram preparadas 980 µL de cada uma das cinco amostras com adição de 20 µL de Tween 80, conforme descrito por Serio *et al.* (2016). As suspensões microbianas foram preparadas com o auxílio de alça metálica estéril, retirando uma porção das colônias e diluída em 30 mL de solução salina estéril. Foi utilizado o turbidímetro (Fabricante: AlpHakit, modelo: Turbidímetro Plus Microprocessado), através da escala de turvação de Mc Farland. Na sequência foi determinada a turbidez da suspensão microbiana, sendo ajustada considerando uma concentração de 10<sup>6</sup> UFC/mL, em seguida foi realizado a semeadura com 1 mL em superfície no ágar TSA e Sabouraud, de acordo com o microrganismo analisado, utilizando alça de Drigalski, foi distribuída em toda superfície da placa, após isso foi removido da região central do ágar de cada placa, uma área correspondente ao diâmetro de 10 mm, equivalente a 1 mL de volume, para isso fora utilizado um tubo de aço inoxidável com aresta cortante, autoclavado anteriormente. Nesta lacuna foi depositado as cinco amostras: óleo de girassol ozonizados pelo método BCR e injetor Vent. com e sem adição de 10% de água e do óleo *in natura*, figura 4. Os compostos ozonídeos presente no óleo ozonizado, com a sua propriedade microbicida produzem no meio de cultura contendo os microrganismos a inativação destes mesmos, resultando na formação de uma área de expansão circular, permitindo dessa maneira a medida do diâmetro de inibição, quanto maior esta dimensão mais microbicida contempla o óleo ozonizado. A verificação do halo de inibição considerando cada microrganismo citado, envolveu o uso de três amostras (triplicata), permitindo também a obtenção de média, desvio padrão e erro de incerteza.



**Figura A**



**Figura B**

Figura 4. Imagens representando o protocolo de análise microbiológica quantitativa pelo método halo de inibição, trata-se de meio de cultura contendo microrganismos *S. aureus*, *E. Ecoli* e *C. albicans*, sendo que em cada placa há um tipo de microrganismo para a análise. Na figura A está indicado o procedimento de remoção do disco central do próprio meio de cultura, na Figura B representa a deposição do agente microbicida óleo de girassol ozonizado.

#### 4.4.5 Caracterização do óleo por espectroscopia infravermelha

No intuito de verificar a variação da degradação de alguns compostos moleculares pertinentes ao óleo *in natura*, bem como também identificar a formação dos ozonídeos formados durante o processo de oxidação (ozonização) do óleo de girassol, obteve-se espectros infravermelho utilizando o espectrômetro marca Perkin Elmer, modelo Spectrum Frontier. Considerando cada procedimento de ozonização sendo reator coluna de borbulhamento, e o de fluido-dinâmica com bomba e injetor Venturi, ambos com e sem a adição de 10% de água, para cada amostra de óleo ozonizado foram coletados 20 espectros, sendo destes obtido uma média com o espectro final. Deve-se ressaltar que antes o equipamento foi submetido ao processo de calibração com remoção do “ruído de fundo” espectral, e normalização espectral. A resolução espectral do monocromador do equipamento citado é especificado pelo fabricante valendo  $4\text{ cm}^{-1}$ , a faixa de atuação espectral é de  $4000\text{ a }400\text{ cm}^{-1}$ , e umidade relativa do ar de 46%.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Procedimento de ozonização do óleo de girassol

O aparato da montagem envolvendo o circuito fluido-dinâmico com bomba e injetor Venturi, foi estabelecido demonstrando sua funcionalidade, com a utilização de uma bomba do tipo centrífuga, onde em sua cavidade rotacional que produz o escoamento forçado do óleo, é constituído de material plástico inerte. O funcionamento desse acessório ficou estabelecido a atuar com modulação elétrica, com uma tensão de alimentação operacionalizando a 42% em relação ao valor nominal da própria bomba, neste sentido, foi realizada a medição da vazão de óleo produzida, apresentando um valor de 72 mL/minuto. Nesta situação, como o tempo estabelecido de ozonização foi de 4 horas, não constatou-se aumento de temperatura do óleo ozonizado, verificando-se a sua manutenção equivalente ao ambiente.

### 5.2 Análise Físico-Química

A tabela 1 indicada a seguir, mostra os valores físico/químicos dos óleos ozonizados, bem como também do *in natura*, na segunda coluna é mostrado os valores do índice de iodo, de fato, verifica-se que para todos os 4 procedimentos de ozonização do óleo de girassol, seus valores correspondentes do índice de iodo diminuiram em se comparando com o óleo de girassol pré ozonizado. Já para os valores dos índices de peróxido relacionado ao óleo de girassol *in natura*, constatou-se o aumento considerando os 4 procedimentos de ozonização, no caso em se realizando a comparação entre o procedimento de ozonização reator coluna de borbulhamento com o injetor Venturi, observou-se uma diminuição de 21%. Em se relacionando esses dois métodos de oxidação do óleo já mencionados anteriormente, com exceção da adição de água, verificou-se uma redução de 11%. Realizando uma comparação intrínseca a cada processo de ozonização, ou seja, verificando a relação do mesmo procedimento de com e sem a adição de água, no

caso da coluna de borbulhamento mostrou um aumento de 13%, já no caso do protocolo realizado com o sistema Venturi mostrou uma majoração de 28%.

No caso dos valores dos índices de pH verificou-se que em comparação com o óleo de girassol pré ozonizado, todos os valores pertinentes aos procedimentos de ozonização com e sem a adição da água, ocorreu redução dos valores, realizando a comparação com a referência óleo de girassol, nos casos do BCR com e sem água resultou numa diminuição percentual de 44%, já no caso do sistema Vent. com e sem água 50%.

**Tabela 1. Parâmetros físico-químicos dos óleos de girassol ozonizados, na primeira coluna está indicado os métodos de ozonização, bem como também o óleo na condição *in natura*, BCR representa o reator coluna de borbulhamento, BCR(H<sub>2</sub>O) o mesmo que o anterior com exceção da adição de 10% de água. A simbologia Vent. representa o método de ozonização do óleo utilizando o injetor Venturi, já o último significa o mesmo do anterior exceto com o adicional de 10% de água.**

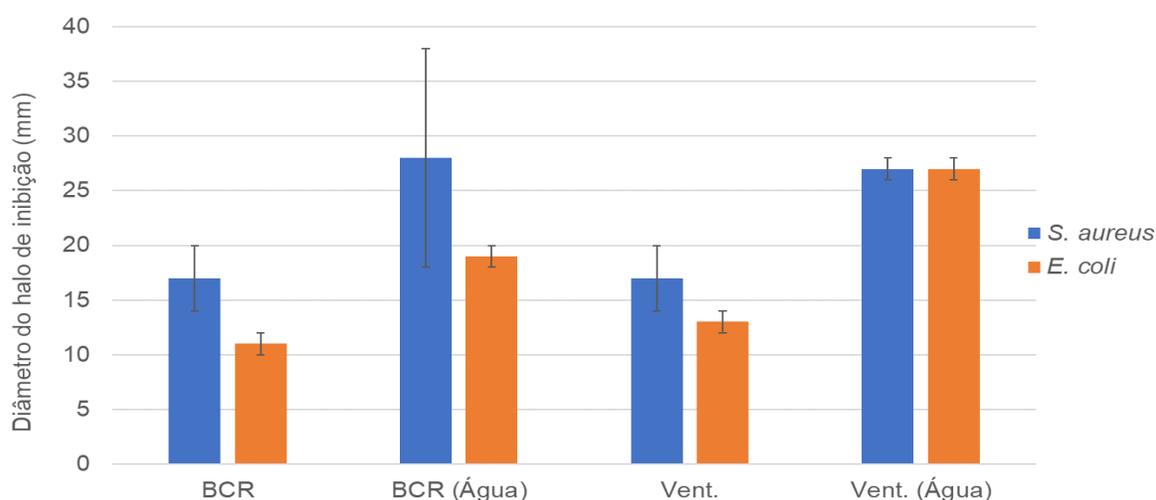
Amostras de Óleos	Índice de Iodo (g de iodo/100g de amostra)	Índice de Peróxido (meq/Kg óleo)	pH	Viscosidade (mPa.s)
Óleo	21,5±0,50	3,3±0,82	6,91±0,07	54,4±0,44
BCR	8,5±0,28	109,3±0,72	3,88±0,02	58,87±1,07
BCR (H <sub>2</sub> O)	7,1±0,10	123,6±0,35	3,88±0,02	56,3±0,55
Vent.	8,4±0,36	85,5±3,65	3,44±0,01	58,7±0,44
Vent. (H <sub>2</sub> O)	7,1±0,15	109,9±0,74	3,44±0,01	55,37±0,92

Com relação a viscosidade de acordo com os dados obtidos na tabela 1, verificou-se que em relação ao óleo pré ozonizado, em geral mostrou um discreto aumento da viscosidade, esses valores não excederam 11% de diferença, especificamente nos casos tanto BCR quanto Vent. ambos com água, esse aumento da viscosidade foi menor ainda resultando em 3,5%.

### 5.3 Análise Microbiológica

Os resultados dos valores do halo de inibição considerando todos os óleos ozonizados, apresentaram em geral efeito microbicida, todas as amostras de óleo de girassol ozonizado mostraram a formação do diâmetro de inibição atingindo o meio de cultura com os microrganismos, com exceção da *Candida albicans* não demonstrando portanto efeito fungicida.

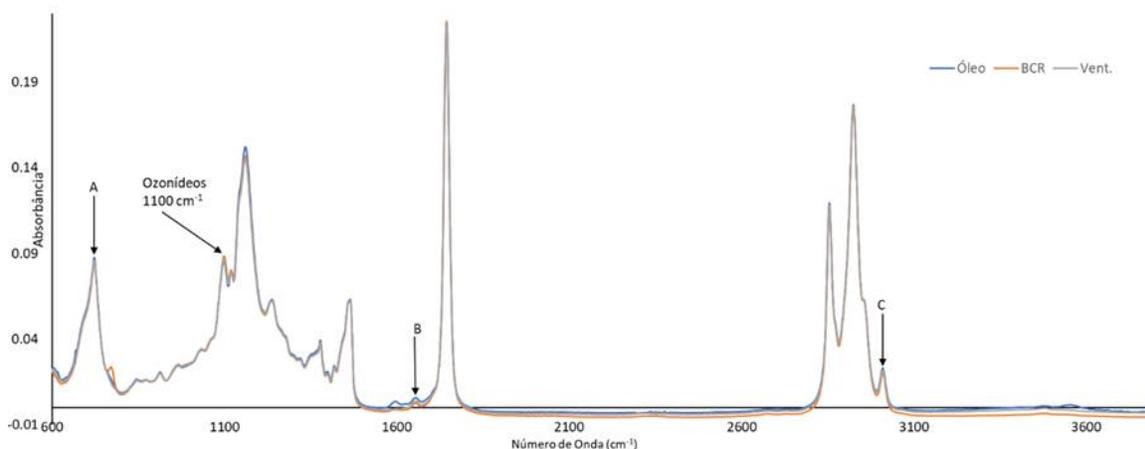
Verificou-se maiores efetividades microbicidas através dos halos de inibição, considerando-se tanto o óleo de girassol processado pelo método usando o reator coluna de borbulhamento (BCR), bem como também o procedimento utilizando o circuito fluido-dinâmico com injetor Venturi, ambos com o aditivo de 10% de água, figura 5. Considerando o microrganismo *Candida albicans* (*C. albicans*), os resultados mostraram o não efeito fungicida com relação aos 4 processos envolvendo a ozonização do óleo de girassol, sugerindo a ação inerte dos ozonídeos gerados e agregados ao óleo.



**Figura 5.** Análise quantitativa microbiológica utilizando a técnica do halo de inibição, os microrganismos utilizados foram o *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) e *Escherichia coli* (*E. coli*). Os agentes microbicidas foram os óleos de girassol ozonizados, um através do método reator coluna de borbulhamento (BCR), o segundo envolvendo o mesmo do anterior com exceção da adição de 10% de água (BCR (Água)). O terceiro estabelecido como o circuito fluido-dinâmico com injetor Venturi (Vent.), e o último similar ao anterior exceto pelo adicional de 10% de água (Vent. (Água)).

## 5.4 Caracterização do óleo por espectroscopia infravermelha

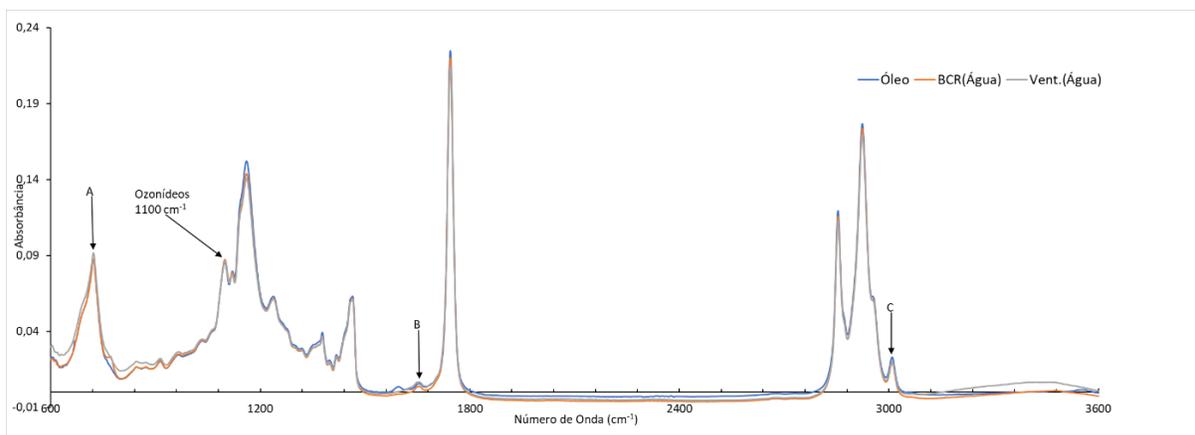
Os espectros infravermelhos obtidos das amostras do óleo de girassol ozonizados, tanto pelo método do reator coluna de borbulhamento, quanto pelo processo envolvendo o circuito fluido-dinâmico com injetor Venturi, revelaram a presença dos compostos ozonídeos primários, pertinentes a banda espectral localizada em  $1100\text{ cm}^{-1}$  (figura 6). Verificou-se também a degradação por oxidação produzida pelo ozônio, dos compostos do óleo de girassol *in natura* localizadas nas bandas  $725$ ,  $1650$  e  $3010\text{ cm}^{-1}$ , estas substâncias são constituídas de moléculas que apresentam dupla ligação de carbono ( $\text{C}=\text{C}$ ).



**Figura 6.** Espectros infravermelhos de absorção dos óleos de girassol ozonizados, os métodos envolveram um com o uso do reator coluna de borbulhamento, e o outro utilizando um circuito fluido-dinâmico com bomba e injetor Venturi para a inserção do gás ozônio. As setas A, B e C mostradas no espectro indicam as bandas  $725$ ,  $1650$  e  $3010\text{ cm}^{-1}$ , que representam as moléculas do óleo de girassol constituídas com dupla ligação de carbono ( $\text{C}=\text{C}$ ). A seta indicando a banda em  $1100\text{ cm}^{-1}$  representa no espectro a formação dos ozonídeos primários, que foram gerados durante os processos de ozonização. Para a visualização do espectro de maneira mais ampla, vide anexo 1.

Foram também obtidos espectros infravermelho dos óleos de girassol ozonizados tanto pelo método utilizando o reator coluna de borbulhamento, quanto também do circuito fluido-dinâmico com bomba e injetor Venturi. Para esses dois

procedimentos foram adicionados 10% de água, como pode ser verificado na Figura 7 a seguir, constatou-se a presença da banda em  $1100\text{ cm}^{-1}$ , a qual representa a formação do ozonídeos primários. Também verificou-se as indicações de diminuição das intensidades das bandas  $725$ ,  $1650$  e  $3010\text{ cm}^{-1}$  pertinentes as moléculas constituintes do óleo ozonizado, as quais representam moléculas com dupla ligação de carbono ( $\text{C}=\text{C}$ ).



**Figura 7. Espectro infravermelho de amostras do óleo de girassol ozonizados pelos métodos reator coluna de borbulhamento (BCR), e circuito fluido-dinâmico com bomba e injetor Venturi (Vent.), ambos com adição de 10% de água. As setas mostradas com as letras A, B e C indicam bandas espectrais que representam substâncias do óleo de girassol, com moléculas constituídas de dupla ligação de carbono. A seta que indica a banda localizada em  $1100\text{ cm}^{-1}$ , representa a formação dos ozonídeos primários gerados durante os processos de ozonização do óleo de girassol. Para a visualização do espectro de maneira mais ampla, vide anexo 2.**

## 6 DISCUSSÃO

As infecções da pele são um dos principais fatores que afetam o processo de cicatrização. O problema relativo à resistência antimicrobiana levou ao aumento da pesquisa de produtos naturais com efeitos antimicrobianos para aplicações terapêuticas (DAI *et al.*, 2010).

O ozônio é um gás instável que pode reagir por oxidação com óleos vegetais para produzir óleos ozonizados, que possuem propriedades antibacterianas e bioestimulante, e podem ser usados em diversas áreas da saúde (SERIO *et al.*, 2016). O óleo da semente de girassol ozonizado, em particular, é um produto com atividade microbicida de amplo espectro com atividade inibitória e letal sobre bactérias gram-positivas e gram-negativas (incluindo cepas resistentes a antibióticos) e leveduras (DIAZ *et al.*, 2006b). Tem sido demonstrado que o efeito antimicrobiano é atribuível não apenas aos ozonídeos presentes no óleo ozonizado, mas também à complexa mistura de compostos oriundos do processo de ozonização (MENENDEZ *et al.*, 2008).

Neste estudo objetivou-se desenvolver um método diferenciado em termos de produzir o óleo vegetal ozonizado, em nosso caso o óleo de girassol, neste sentido os resultados obtidos evidenciaram a geração dos compostos ozonídeos, uma vez que estes apresentam propriedades microbicida. Os parâmetros que mais destacaram a presença dos peróxidos foram o da avaliação microbiológica, especificada pela medida do diâmetro do halo de inibição, bem como também os valores quantitativos encontrados dos peróxidos na escala milli-equivalente de oxigênio ativo por quilograma do óleo analisado (meq/Kg). Os resultados espectrais infravermelhos embora discretos mas visíveis, disponibilizaram informações técnicas tanto da degradação das moléculas constituintes do óleo de girassol, que apresentam dupla ligação de carbono (C=C) especificados nas bandas 725, 1650 e 3010  $\text{cm}^{-1}$ , como também verificou-se a produção dos compostos ozonídeos primários (peróxidos) localizados na banda 1100  $\text{cm}^{-1}$ , sendo estes que apresentam propriedades microbicidas e bioestimulante (SORIANO *et al.*, 2003).

A técnica proposta neste trabalho envolvendo o método de ozonização do óleo de girassol, utilizando o sistema fluido-dinâmico com bomba e injetor Venturi, apresentava a expectativa de produzir de maneira mais eficiente os ozonídeos através da oxidação do ozônio, de fato relatos técnico/científico envolvendo a ozonização da água, mostram resultados comprovados no sentido de evidenciar sua maior eficiência da gaseificação do meio líquido em comparação ao sistema reator coluna de borbulhamento. Neste sentido os resultados encontrados neste estudo em termos da ozonização do óleo de girassol, utilizando o circuito fluido-dinâmico com injetor Venturi não apresentou maior eficiência. De fato, consultando a literatura técnico/científico, que ressalta informações envolvendo a gaseificação de óleos em geral, afirmando que o parâmetro viscosidade influencia na taxa de transferência da fase gás para a fase líquida, comparando as viscosidades da água e óleos em geral, a diferença é bem expressiva, enquanto a água nas condições normais de temperatura e pressão apresenta valor da viscosidade em torno de 1mPa.s, o óleo de girassol é 50 vezes maior (~55mPa.s) em comparação com a água, neste sentido com a viscosidade elevada, as bolhas de gás tem um limite de dimensão, não conseguindo formar em tamanho diminuto (BEHKISH 2002; LIMA 2018).

A adição da água a 10% junto ao óleo de girassol, como mistura para ser submetido ao processo de ozonização, realmente aumenta a produção dos ozonídeos que são responsáveis pela ação microbicida do óleo, de fato, observando os resultados da viscosidade pós a realização dos dois procedimentos de ozonização (BCR e Vent.) com água, verificou-se a diminuição dos valores das suas respectivas viscosidades, em comparação com estes mesmos processos sem a presença da água, o que ao menos informa indiretamente apresentar maior eficiência na transferência do gás ao meio líquido durante os procedimentos de ozonização.

Tanto as bactérias gram-negativas *E. coli* quanto a levedura *C. albicans* foram mais resistentes ao óleo de girassol ozonizado do que *S. aureus*, pois esses microrganismos necessitam de preparo com dose de ozônio maior para serem totalmente eliminados. Isso poderia sugerir que o óleo de girassol ozonizado, de

forma semelhante ao ozônio gasoso, atua de maneira mais eficiente em bactérias gram-positivas do que em bactérias gram-negativas e fungos (SKALSKA *et al.*, 2009).

O presente estudo apresentou uma proposta diferenciada em termos de realizar a produção de óleos vegetais ozonizados, especificamente neste estudo atuou-se com o óleo de girassol, de fato, a técnica de ozonização envolvendo o uso do sistema circuito fechado fluido-dinâmico com bomba centrífuga e injetor Venturi, apresentou a capacidade de produzir os compostos ozonídeos pertinentes a aplicação medicinal. A vantagem deste aparato com relação ao sistema tradicional usando o reator coluna de borbulhamento (BCR), é que em termos de montagem de equipamento, este sistema poderá ocupar menor espaço, uma vez que o tanque de armazenamento do óleo é bem menor em se comparando com o BCR, mesmo utilizando acessórios como a bomba e o injetor Venturi. Um dos desafios encontrados neste estudo foi de encontrar um dispositivo eletro-mecânico (bomba), que permita realizar o escoamento forçado do óleo de girassol para a sua ozonização, sem resultar em aumento significativo da temperatura da bomba, pois o fluido óleo por apresentar bem maior valor da viscosidade em relação a água, demanda maior energia a fim de produzir o escoamento forçado, neste sentido a melhor opção encontrada foi de utilizar uma bomba do tipo centrífuga, modulada eletricamente para o seu funcionamento, numa condição a 42% relacionada ao valor nominal de alimentação em Volts deste próprio acessório.

## **7 CONCLUSÃO**

Neste estudo constatou-se que o método de ozonização do óleo de girassol, utilizando o circuito fluido-dinâmico com bomba e injetor Venturi, apresentou a capacidade de produzir os compostos ozonídeos, os quais apresentam propriedades microbicida e bioestimulante.

O sistema desenvolvido para a ozonização do óleo de girassol, utilizando o aparato circuito fluido-dinâmico fechado com bomba e injetor Venturi, mostrou ser equivalente em comparação ao protocolo tradicional usando o sistema reator coluna de borbulhamento, em termos de eficiência na produção dos compostos ozonídeos.

## 8 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, E., *et al.* Tratamento de efluentes industriais por processos oxidativos na presença de ozônio. *Química Nova*, v. 27, n. 5, p. 818-824, 2004.

BALAKRISHNAN, P. A.; ARUNAGIRI, A.; RAO, P. G. Ozone generation by silent electric discharge and its application in tertiary treatment of tannery effluent. *Journal of Electrostatics*, v. 56, n. 1, p. 77-86, 2002.

BEHKISH, A. *et al.* Mass transfer characteristics in a large-scale slurry bubble column reactor with organic liquid mixtures. *Chemical Engineering Science*, v. 57, n. 16, p. 3307-3324, 2002

BOCCI, V., BORRELLI, E., TRAVAGLI, V., *et al.* The ozone paradox: ozone is a strong oxidante as well as a medical drug. *Medl Res Ver.* 2009;29(4):646-82.

BOCCI, V. *Ozone: a new medical drug.* Dorrecht: Springer; 2005. 295 p.

CAMPANATI, A. *et al.* Topical Ozonated Oil versus Hyaluronic Gel for the Treatment of Partial-To Full-Thickness Second-Degree Burns: A Prospective, Comparative, Single-Blind, Non-Randomised, Controlled Clinical Trial. *Burns: Journal of the International Society for Burn Injuries*, v. 39, p. 1178–83, 2013.

CARVALHO, H.C., MELO, M.S., LIMA, C.J., ALVES, L.P., Jr. L.S., ZÂNGARO, R.A., Effectiveness of ozone-liquid mass transfer aiming ozone therapy. *Word Congress On Medical Physics and Biomedical Engineering.* Spring International Publishing Switzerland. 2015.

CRIEGEE, R. Mechanism of Ozonolysis. *Angewandte Chemie International. Edition in English*, v. 14, n. 11, p. 745–52, 1975.

DAI, T., Y. Y. *et al*, Topical Antimicrobials for Burn Wound Infections. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, v. 5, n. 2, p 124-51, 2010.

DIAZ, M. F. *et al*. Study of three systems of ozonized coconut oil. *Ozone: Science and Engineering*, v. 27, n. 2, p. 153-57, 2005.

DIAZ, M. F. *et al*. Study of ozonated sunflower oil using <sup>1</sup>H NMR and microbiological analysis. *Ozone: Science & Engineering*, v. 28, n. 1, p. 59-63, 2006a.

DIAZ, M. F., *et al*. Comparative Study of Ozonized Olive Oil and Ozonized Sunflower Oil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 17, n. 2, p. 403–07, 2006b.

DIAZ, M. F., *et al*. Estudio Comparativo De La Ozonización De Aceites De Girasol Modificados Genéticamente Y Sin Modificar. *Química Nova*, v. 32, p. 2467– 72, 2009.

European Pharmacopeia, 6<sup>th</sup> edition. Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care (EDQM), Council of Europe; 2007.

EVANS, H. L., *et al*. Cost of Gram negative Resistance. *Critical Care Medicine*, v. 35, p. 89–95, 2007.

FUKUMA, M., *et al*. Properties of bubble swarm in a slurry bubble column. *Journal Chemistry Engineering*. 1987, 1-6.

GEORGIEV, V. F., *et al*. Study of ozonated olive oil: monitoring of ozone absorption and analysis of the obtained functional groups. *Ozone: Science & Engineering*, v. 37, n. 1, p. 55-61, 2015.

GUILLÉN, M. D., and N. Cabo. Fourier Transform Infrared Spectra Data versus Peroxide and Anisidine Values to Determine Oxidative Stability of Edible. *Oils Food Chemistry* 77, v. 4, p. 503–10, 2002.

GEWEELY, N. S. I. Antifungal Activity Ozonized Olive Oil (Oleo zone). International Journal Agricultural Biologic, v. 8, p. 670–75, 2006.

KANTARCI, N.; BORAK, F.; ULGEN, K. O. Bubble column reactors. Process biochemistry, v. 40, n. 7, p. 2263-83, 2005.

LIMA, J. R; GONÇALVES, A. G; Parâmetros de avaliação da qualidade de óleo de soja utilizado para fritura; Química Nova, v. 17 n. 5, p. 392-396, 1994.

LIMA, V. N., *et al.* Tratamento de efluentes gasosos e líquidos em reatores de coluna de bolhas por processos avançados de oxidação: Uma revisão. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, v. 48, n. 8, p. 16-18, 2018

MANDARINO, J.M.G., *et al.* Tecnologia para produção do óleo de soja: descrição das etapas, equipamentos, produtos e subprodutos, 2.ed. Londrina: Embrapa Soja, 2015.

MENENDEZ, S., *et al.* Efficacy of ozonized sunflower oil in the treatment of tinea pedis. Mycoses. v. 45, p. 329-32, 2002.

MENENDEZ, S. *et al.* El Ozono: Aspectos Básicos y Aplicaciones Clínicas. Cuba: Editorial CENIC, v.10, p. 320, 2008.

MIRMORTAZAVI, A., *et al.* Kinetics of antifungal activity of home-generated ozonated water on *Candida albicans*. Curr Med Mycol. v. 4, n. 2, p. 27-31, 2018.

MONTEVECCHI, M. *et al.* Comparison of the Antibacterial Activity of an Ozonated Oil with Chlorhexidine Digluconate and Povidone-Iodine. A Disk Diffusion Test. The New Microbiologica, v. 36, p. 289–302, 2013.

MOUREU, S. *et al.* Influence of storage temperature on the composition and the antibacterial activity of ozonized sunflower oil. *Ozone: Science & Engineering*, v. 38, n. 2, p. 143-49, 2016.

OMONOV, T. S., KHARRAZ, E., CUTIS, J. M. Ozonolysis of Canola Oil: A Study of Product Yields and Ozonolysis Kinetics in Different Solvent Systems. *Journal of the American Oil Chemists Society*, v. 88, p. 689–705, 2011

ROSADO, F. G. L. Aplicação da ozonização e de processos oxidativos avançados na degradação dos fármacos paracetamol e dipirona presentes em efluentes aquosos simulados. Diamantina, MG. 2014.

SADOWSKA, J. *et al.* Characterization of Ozonated Vegetable Oils by Spectroscopic and Chromatographic Methods. *Chemistry and physics of lipids Journal*, v. 151, p.85–91, 2008.

SERIO, F., G. *et al.* A New Formulation Based on Ozonated Sunflower Seed Oil: In Vitro Antibacterial and Safety Evaluation. *Ozone: Science & Engineering*, v. 39, n. 3, p. 139–47, 2017.

SILVA, V., *et al.* High Efficacy of Ozonated Oils on the Removal of Biofilms Produced by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from Infected Diabetic Foot Ulcers. *Molecules*. v.25, n. 16 p. 3601, 2020.

SILVA, S. B.; *et al.* Potencialidades do uso do ozônio no processamento de alimentos. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 32, n. 2, p. 659-682, 2011.

SKALSKA, K., *et al.* Germicidal Properties of Ozonated Sunflower Oil. *Ozone: Science & Engineering*, v. 31, p.232–7, 2009.

SORIANO, N.U.; MIGO, V.P.; MATSUMURA, M. Ozonation of sunflower oil: Spectroscopic monitoring of the degree of unsaturation. *J Amer Oil Chem Soc.* v. 80, p. 997–1001, 2003.

SCHWARTZ, A; SANCHEZ-MARTÍNEZ, G.; QUIUNTERO, R. Madrid Declaration on Ozone Therapy. Faculdade do Centro Oeste Paulista. Madrid. 2010.

TRAVAGLI, V.; ZANARDI, I.; VALACCHI, G.; BOCCI, V. Ozone and ozonated oils in skin diseases: A review. *Mediat Inflamm*, 2010.

UGAZIO, E., *et al.* Ozonated Oils as Antimicrobial Systems in Topical Applications. Their Characterization, Current Applications, and Advances in Improved Delivery Techniques. *Molecules*, v. 25, n. 2, p. 334, 2020.

VALACCHI, G. *et al.* Emerging Topics in Cutaneous Wound Repair. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1259, p. 136–44, 2012.

VALACCHI, G. *et al.* Ozonated sesame oil enhances cutaneous wound healing in SKH1 mice: Ozonated sesame oil enhances wound healing. *Wound Repair and Regeneration*, v. 19, n. 1, p. 107–115, 2011.

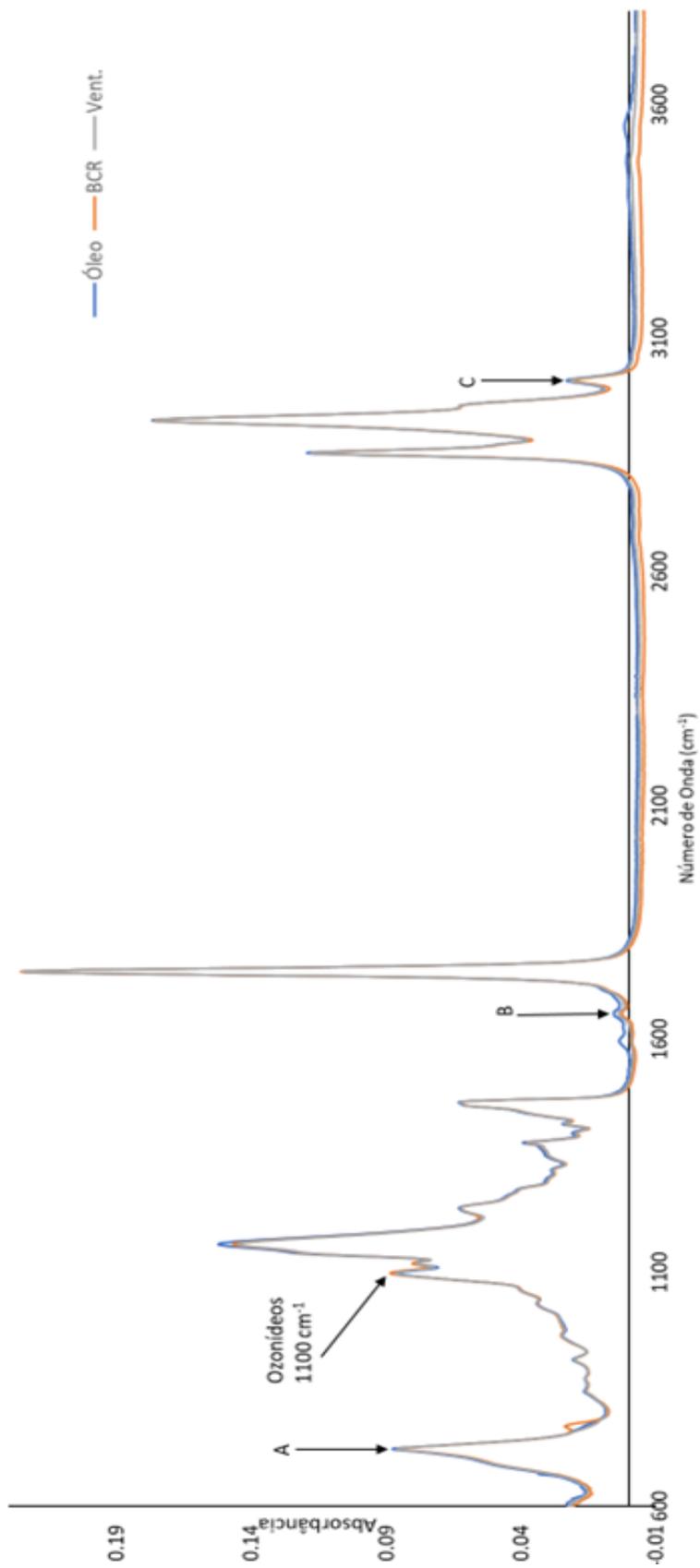
VALACCHI, G.; FORTINO, V.; BOCCI, V. The Dual Action of Ozone on the Skin. *The British Journal of Dermatology*, v. 153, p. 1096–100, 2005.

VAN LEEUWEN, J. Proposed OS&E Requirement: Measuring Ozone Dosage. *Ozone: Science & Engineering*, v. 37, n. 2, p. 191-192, 2015.

VAROL, M. ROS and oxidative stress in cancer: recent advances. *Drug targets in cellular processes of cancer: from nonclinical to preclinical models*, p. 109-138, 2020.

Verna, A.K., and S. Rai. Studies on surface to bulk ionic mass transfer in bubble column. *Chemical engineering journal*, v. 94, p 67-72, 2003.

# Anexo 1



## Anexo 2

