

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

PEDRO DE MELO NOBRE

Síntese de Liso-lecitinas com propriedades
biocidas a partir de lecitinas de soja

Rio de Janeiro
2017

PEDRO DE MELO NOBRE

Síntese de Liso-lecitas com propriedades biocidas a partir de lecitinas de soja

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de bacharel em Química.

Orientadores: Cláudio Cerqueira Lopes

Rosângela Sabbatini Capella Lopes

Rio de Janeiro
2017

Universidade Federal do Rio de Janeiro
Instituto de Química
Rio de Janeiro – 2017
FICHA CATALOGRÁFICA

Nobre, Pedro de Melo
Síntese de Liso-lecitinas com propriedades biocidas a partir de
lecitinas de soja /
Pedro de Melo Nobre. -- Rio de Janeiro, 2017.
N f.

Orientador: Cláudio Cerqueira Lopes.
Coorientadora: Rosângela Sabbatini Capella Lopes.
Trabalho de conclusão de curso (graduação) – Universidade
Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Química, Bacharel em
Química, 2017.

1. Lyso-lecitinas. 2. Biocidas. 3. Bioincrustação marinha. 4. Tintas
antiincrustantes. I. Lopes, Cláudio Cerqueira, orient. II. Lopes,
Rosângela Sabbatini Capella, coorient. III. Título

AGRADECIMENTOS

A Deus, primeiramente, por me dar tantas bênçãos durante toda a minha vida. Quando achei que estava sozinho, o Senhor, sempre de alguma maneira, me mostrou que esteve, está e estará ao meu lado.

Aos meus pais, Cristina e José, por todas as oportunidades que me proporcionaram, me apoiando sempre que possível e me criticando sempre que necessário.

À minha avó, Natália, pelo carinho e sabedoria que, em inúmeras ocasiões, me mostraram o momento e o caminho certos.

Aos meus amigos, pelos constantes incentivos e elogios que, muitas vezes, me fizeram confiar mais uma vez que eu conseguiria.

Ao professor Cláudio Cerqueira Lopes, pelos ensinamentos não apenas acadêmicos, mas também de vida, os quais levarei para sempre.

À professora Rosângela Sabbatini Capella Lopes, por me mostrar um modo novo de ensinar, com tamanha gentileza, paciência e compreensão.

Aos meus amigos e companheiros do LASAPE, pelos momentos descontraídos, as risadas e todos os sentimentos compartilhados, pois é isto que constrói um ser humano.

Ao CNPq, pelo auxílio financeiro em forma de bolsa, e aos outros órgãos de fomento como CAPES e FAPERJ, pelos recursos do laboratório.

RESUMO

NOBRE, Pedro de Melo. Síntese de Liso-lecitinas com propriedades biocidas a partir de lecitinas de soja. Rio de Janeiro, 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

A bioincrustação é um dos grandes problemas enfrentados ao manter qualquer estrutura em contato com a água. É uma ação natural que consiste de um processo de colonização e proliferação de bactérias, algas, invertebrados sésseis e outros organismos que se desenvolvem sobre a estrutura submersa, prejudicando a sua performance e diminuindo sua vida útil.

O mercado de tintas com propriedades antiincrustantes contou, por muito tempo, com substâncias tóxicas como o tributilestanho (TBT) ou compostos de cobre e outros metais pesados. Apesar de sua alta eficiência, o TBT foi banido como aditivo biocida antiincrustante, por leis internacionais, devidos aos danos causados ao meio ambiente marinho. Surgiu, então, a necessidade de um substituinte que atenda a demanda do setor industrial sem ir de encontro à política de preservação ambiental.

A utilização de Liso-lecitinas, uma subclasse de glicerofosfolipídios análogos do fator ativador de plaquetas (PAF, em inglês), como aditivos biocidas em tintas antiincrustantes, apresenta diversas vantagens, como: baixo custo de produção, sendo o composto um derivado de lecitinas de soja, produto secundário da extração do óleo de soja, isenção de metais pesados na síntese das Liso-lecitinas, e o apelo natural, sendo o produto biodegradável.

Palavras-chave: Liso-lecitina. Biocida. Tintas antiincrustantes. Bioincrustação.

ABSTRACT

NOBRE, Pedro de Melo. Síntese de Lyso-lecitinas com propriedades biocidas a partir de lecitinas de soja. Rio de Janeiro, 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) – Faculdade de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

Biofouling is one of the most important problems faced when trying to keep any kind of structure in contact with water. It is a natural process consisting of the colonization and proliferation of bacteria, seaweed, sessile invertebrates and other organisms which develop over the surface of the underwater structure, impairing its performance and diminishing its life time.

The market of antifouling paint has depended, for long, on toxic substances, such as tributyltin (TBT) or copper and other heavy metal compounds. Despite its high efficiency, TBT was banished as a biocide antifouling additive, by international laws, due to damage caused to marine environment. Therefore, arises the necessity of an alternative to supply the industrial sector demand while within the environmental protection policy.

Lyso-lecithin use, a platelet activating factor (PAF) analogue glycerophospholipids subclass, as a biocide additive in antifouling paint, presents many advantages, such as low production cost, being a soybean lecithin derivate compound, secondary product of soybean oil extraction, heavy metals absence in lyso-lecithin synthesis, and natural appeal, being biodegradable.

Key words: Lyso-lecithin. Biocide. Antifouling paint. Biofouling.

Autorização

Pedro de Melo Nobre, DRE 111209228, NÃO AUTORIZO o Instituto de Química da UFRJ a divulgar total ou parcialmente o presente Trabalho de Conclusão de Curso através de meios eletrônicos e em consonância com a orientação geral do SIBI.

Rio de Janeiro, __/__/_____.

Assinatura

LISTA DE FIGURAS	Página
Figura 1 - Imagem de fotografia mostrando o desenvolvimento de comunidade em corpo de prova.	11
Figura 2 – Imagens de microrganismos encontrados em biofilmes marinhos.	11
Figura 3 - Ciclo de desenvolvimento de um biofilme	12
Figura 4 - Mexilhão-zebra colonizando um sensor marinho	13
Figura 5 - Mexilhões dourados se proliferam em estruturas metálicas submersas da usina de Itaipu.	14
Figura 6 - Mexilhão-dourado em tubulação.	14
Figura 7 - Navio com detalhes da pintura antiincrustante.	15
Figura 8 - Estrutura de glicerofosfolipídios.	15
Figura 9 - Fator ativador de plaqueta (PAF).	16
Figura 10 - Lyso-PAF C-16.	17
Figura 11 - Lecitinas de soja.	18
Figura 12 - 1-hidroxi-2-O-acil-sn-glicero-3- fosfocolinas.	18
Figura 13 - 1-O-acil-2-hidroxi-sn-glicero-3-fosfocolinas.	18
Figura 14 - Glicerofosfolipídios PAF-análogos	19
Figura 15 - Esquema representando possíveis produtos da reação de metanólise a partir das lecitinas de soja.	20
Figura 16 - Esquema representando possíveis produtos do tipo PAF-análogos obtidos da reação de alquilação.	21
Figura 17 - Aspecto físico do produto principal obtido da reação de metanólise da lecitina.	22
Figura 18 - Aspecto físico do produto obtido na reação de alquilação da Lyso-lecitina.	23
Figura 19 - Espectro de RMN de próton do éter das glicerofosfocolinas.	24
Figura 20 - Espectro de RMN de próton da Lyso-lecitina.	24

Figura 21 - Revestimento E (controle negativo).	25
Figura 22 - Corpos-de-prova pintados com o revestimento A.	26
Figura 23 - Corpos-de-prova pintados com o revestimento B.	27
Figura 24 - Corpos-de-prova pintados com o revestimento C.	27
Figura 25 - Corpos-de-prova pintados com o revestimento D.	28
Figura 26 - <i>Prorocentrum minimum</i> .	29
<i>Figura 27</i> - Tabela de resultados de inibição de <i>Prorocentrum minimum</i> na presença de Lyso-lecitas.	29
<i>Figura 28</i> - Gráfico dos resultados de inibição de <i>Prorocentrum minimum</i> na presença de Lyso-lecitas.	30
Figura 29 - SERC – Smithsonian Environmental Research Center.	30

Sumario

1 – Introdução	11
1.1 – Bioincrustação marinha	11
1.2 – Problemática	13
1.3 – Tecnologias antigas	14
1.4 – Éter 1-O-hexadecil das glicerofosfocolinas	17
2 – Material e método	19
2.1 – Metanólise	19
2.2 – Alquilação	20
3 – Resultados e discussão	21
3.1 – Obtenção e caracterização dos produtos	21
3.2 – Testes de campo	24
4 – Conclusão	30
5 – Referências bibliográficas	31

1 – Introdução

1.1 – Bioincrustação marinha

A bioincrustação marinha é um processo natural de colonização e proliferação de micro e macrorganismos marinhos sobre superfícies submersas (Figura 1). Tal processo ocorre em diversas etapas, a se iniciar pela adsorção de moléculas orgânicas a uma superfície imersa em água, como polissacarídeos e proteínas, seguida da adesão de microrganismos, tais como bactérias, cianobactérias e protozoários (Figura 2), estágio caracterizado pela formação do biofilme. O biofilme é um agente facilitador para o desenvolvimento de macroorganismos, como moluscos, crustáceos e algas (BHADURY e WRIGHT, 2004; FUSETANI, 2004; YEBRA *et al.*, 2004; CALLOW e CALLOW, 2002; 2006; MARECHAL e HELLIO, 2009).

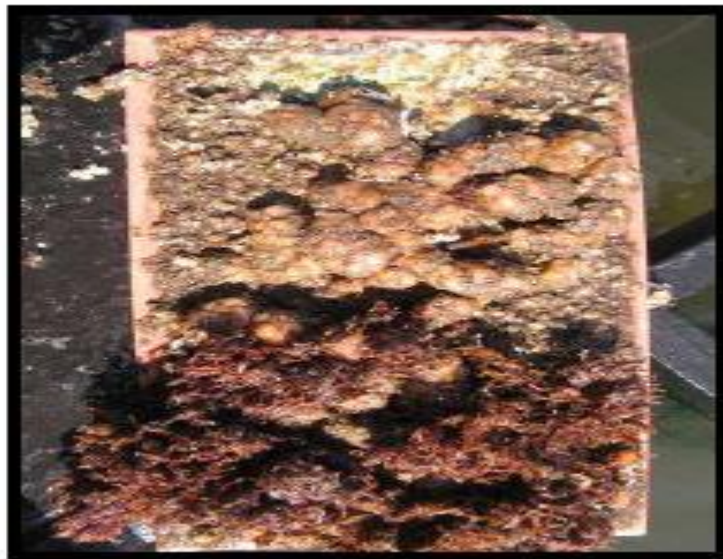


FIGURA 1. Imagem de fotografia mostrando o desenvolvimento de comunidade em corpo de prova.

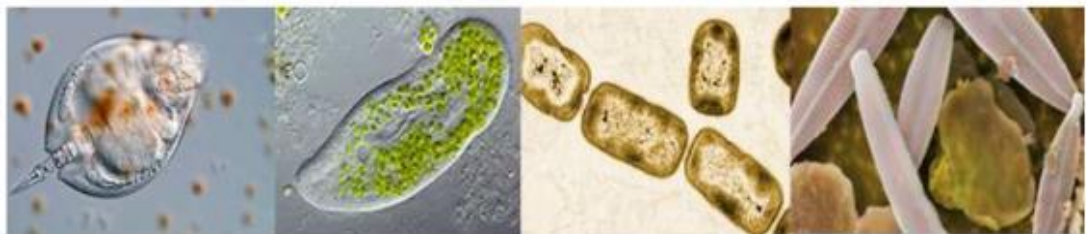


FIGURA 2. Imagens de microorganismos encontrados em biofilmes marinhos. Rotífera; Protozoários; Bactérias; Diatomáceas. (esq -> dir). sem escala. (adaptado da fonte: www.sciencephoto.com)

A bioincrustação é um processo desenvolvido em quatro estágios interdependentes e não necessariamente sequenciais (Figura 3). O primeiro é iniciado conseqüente ao contato da superfície com a água, nos primeiros minutos, ocorrendo acúmulo das moléculas orgânicas. Torna-se possível, então, nas horas sucessivas, o desenvolvimento de uma colônia de bactérias e diatomáceas, assim como cianobactérias, protozoários e rotíferas, que secretam diversos polissacarídeos, chamados exopolissacarídeos, os quais se misturam a ácidos nucléicos, proteínas, minerais, nutrientes, resíduos celulares e aos próprios microrganismos, formando o segundo estágio, o biofilme (ARCE *et al.*, 2004; BHASKAR e BHOSLE, 2005; CALLOW e CALLOW, 2006).

A presença deste garante uma maior proteção aos microrganismos contra predadores, toxinas e alterações ambientais, aumentando, também, a disponibilidade de nutrientes, captados do meio ambiente (COSTERTON, *et al.* 1994; DONLAN, 2002). O terceiro estágio é caracterizado por uma colonização secundária, feita por esporos de macroalgas, larvas de cracas, fungos e outras bactérias e protozoários aumentando a complexidade do biofilme. O quarto, e último, estágio ocorre com o assentamento e crescimento dos organismos marinhos, como moluscos, crustáceos, poliquetas e outros (BORENSTEIN, 1994; FLEMMING *et al.*, 1996).



FIGURA 3. Ciclo de desenvolvimento de um biofilme (Adaptado de JENKINSON; LAPPIN-SCOTT, 2001)

Este processo sofre alterações de inúmeros fatores, como o tipo de substrato, salinidade da água, temperatura, luz ambiente, disponibilidade de nutrientes e o grau de poluição, alterando o tipo, a extensão e a severidade da bioincrustação. Portanto, é um fenômeno sazonal relacionado à posição geográfica, ocorrendo com maior intensidade em zonas tropicais, onde as temperaturas são mais elevadas e em águas mais rasas ou litorâneas, com maior incidência de luz e disponibilidade de nutrientes (PROPELLER, 2004).

1.2 – Problemática

A bioincrustação é uma ação natural que consiste do processo de colonização e acumulação de bactérias, algas, invertebrados sésseis e outros organismos e que se desenvolve sobre estruturas submersas prejudicando suas performances e comprometendo suas integridades, e representa um dos grandes problemas enfrentados ao se colocar qualquer tipo de estrutura submersa em água (ZHOU, 2015).

Além da evidente queda de desempenho das atividades pretendidas, a formação do biofilme e posterior desenvolvimento e colonização por macrorganismos torna necessária uma limpeza, normalmente realizada por raspagem, o que acaba por aumentar o custo, podendo representar um sério problema econômico (Figura 4) (Batista, 2012).



FIGURA 4. Mexilhão-zebra colonizando um sensor marinho (Adaptado de <http://newatlas.com/twitch-antifouling-coating/26063/>)

Em outros casos, como a bioincrustação presente nas turbinas de hidrelétricas, há a necessidade de interrupção das atividades, afetando a geração e distribuição de energia elétrica no setor mais representativo do ramo no Brasil, retratando o problema social gerado pelo processo de bioincrustação natural (Figuras 5 e 6) (Batista, 2012).



FIGURA 5. Mexilhões dourados se proliferam em estruturas metálicas submersas da usina de Itaipu. (Adaptado de <https://zonaderisco.blogspot.com.br/2016/12/mexilhao-dourado-invade-o-nordeste.html>)



FIGURA 6. Mexilhão-dourado em tubulação. (Adaptado de <https://zonaderisco.blogspot.com.br/2016/12/mexilhao-dourado-invade-o-nordeste.html>)

1.3 – Tecnologias antigas

Por muito tempo, o mercado mundial de tintas marítimas com propriedades antiincrustantes, utilizadas no revestimento de embarcações (Figura 7), contou quase exclusivamente com produtos como tributestanho (TBT) ou compostos a base de outros metais pesados, como cobre, como agentes biocidas. Apesar da alta eficiência do TBT, reconhecida a nível global, sua toxicidade e os danos causados ao meio ambiente, comprovados cientificamente, o levaram a ser

banido por leis ambientais internacionais, em 2008. Surge então a necessidade de um novo produto substituto (CHAMP, 2000; IMO, 2008; GIPPERTH, 2009; SONAK *et al.*, 2009; QIAN *et al.*, 2010).



FIGURA 7. Navio com detalhes da pintura antiincrustante.

(Fonte: Coatings World Magazine*)

*Disponível em: http://www.coatingsworld.com/contents/view_products/2010-10-08/new-products-enhance-international-aints-antifoul

A utilização de glicerofosfolipídios (GPL) (Figura 8) como aditivos biocidas antiincrustantes em tintas marítimas, principalmente aqueles GPL com estruturas químicas semelhantes à substância conhecida como fator ativador de plaquetas (PAF), vem sendo estudada com resultados bastante satisfatórios.

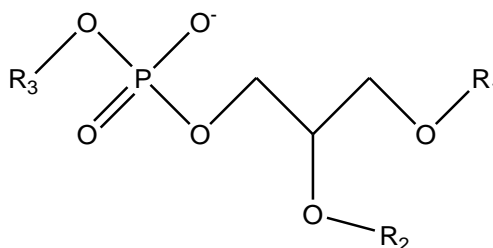


FIGURA 8. Estrutura de glicerofosfolipídios.

Os GPL têm sido utilizados para reduzir a adesão de moléculas orgânicas, como proteínas, e bactérias em materiais empregados em determinadas áreas tecnológicas, como: materiais médicos, como próteses, cateteres e lentes oftalmológicas; equipamentos de

processamento de alimentos, fármacos e bebidas; equipamentos filtrantes; etc. É suposto que estas propriedades antiaderentes derivam de peculiaridades de suas naturezas anfífilas ou até zwitteriônicas (SARIRI e TOOSI, 2003; GOREISCH *et al.*, 2004; IWASAKI e ISHIHARA, 2005; XU *et al.*, 2008; WATANABE e ISHIHARA, 2008:).

PAF (Figura 9) e Lyso-PAF (figura 10) análogos se referem, respectivamente, aos éteres-lipídios 1-O-alkuil-2-acetil-sn-glicero-3-fosfocolina e ao 1-O-alkuil-2-OH-sn-glicero-3-fosfocolina, sem restrição ao comprimento ou grau de insaturação do grupamento alquila, sendo mediadores biológicos poderosos produzidos por diversos e inúmeros tipos de célula (TOKUMURA *et al.*, 1989; TOKUMURA, 1995). Além das propriedades previamente apresentadas, estas substâncias possuem baixos pesos moleculares, não ultrapassando 1000 Daltons, tornando mais fácil sua difusão através do biofilme produzidos pelas bactérias e, também, seu trânsito quanto aos possíveis mecanismos de absorção celular envolvendo a membrana citoplasmática dos microorganismos presentes em tais biofilmes (Jones *et al.*, 1977; Nikaido *et al.*, 1985; Koebnik *et al.*, 2000, Przetalski *et al.*, 2000). Além disso, estes GPL especiais, sem o radical alquila na posição sn-2 do glicerol podem atuar como moléculas sinalizadoras, quando em contato ou absorvidas pelos microorganismo, sem sofrer a interrupção de seu mecanismo por enzimas do tipo fosfolipase (PLA), permitindo seu acúmulo no invólucro, parede ou interior das células, iniciando um processo antagônico de resposta celular, inibindo o desenvolvimento ou destruindo o microorganismo atingido (Marathe *et al.*, 2001; Fruhwirth *et al.*, 2007; Welch *et al.*, 2009).

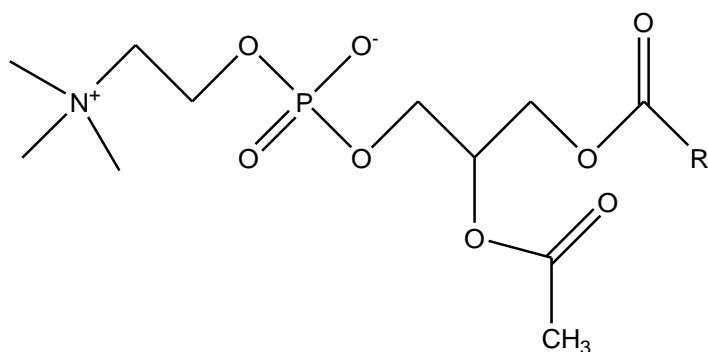


FIGURA 9. Fator ativador de plaqueta (PAF)

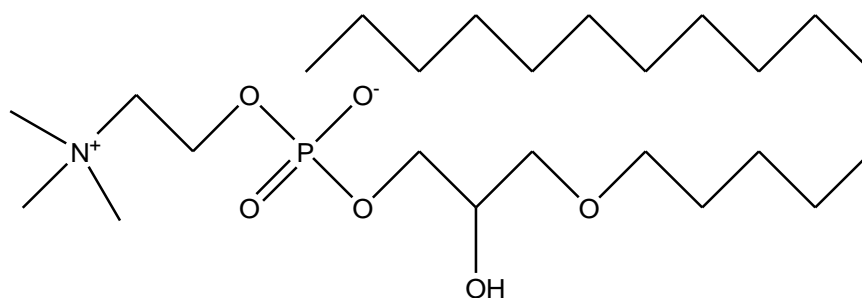


FIGURA 10. Lyso-PAF C-16 (Adaptado de <https://www.caymanchem.com/product/60906>)

1.4 – Éter 1-O-hexadecil das glicerofosfolinas

Dentre os GPL, aqueles com estruturas semelhantes ao PAF e ao Lyso-PAF apresentam propriedades biocidas e podem ser utilizados no combate a bioincrustação marinha (WISSNER *et al.*, 1984; TOKAMURA *et al.*, 1989; PRESCOTT *et al.*, 1990; VENABLE *et al.*, 1993).

A síntese total de glicerofosfolípidios não é uma tarefa trivial, pois requer a incorporação regioseletiva de três diferentes substituintes nas três posições possíveis da molécula de glicerol, o que envolve seqüências de proteção e desproteção de suas hidroxilas e seqüências de alquilação ou acilação e fosforilação, podendo para este intento normalmente utilizar-se de procedimentos catalíticos e enzimáticos (TESTET *et al.*, 2002; ICHIHARA *et al.*, 2005; D'ARRIGO *et al.*, 2007; D'ARRIGO e SERVI, 2010). Cabe mencionar, no entanto, que as rotas sintéticas citadas têm sido empregadas em ensaios laboratoriais, trabalhando-se na faixa de micro e miligramas, não estando tais sínteses relacionadas a produções em escala comercial, ou seja, grandes quantidades (multitoneladas).

A síntese, desenvolvida no Laboratório de Síntese e Análise de Produtos Estratégicos – LASAPE, Instituto de Química (UFRJ), consiste de uma etapa preliminar de metanólise de lecitinas de soja (Figura 11), visando à obtenção de lyso-glicerofosfolípidios do tipo 1-hidroxi-2-O-acil-sn-glicero-3-fosfolina (Figura 12) e 1-O-acil-2-hidroxi-sn-glicero-3-fosfolina (Figura 13) que, em uma segunda etapa, são submetidos à reação de alquilação (2ª síntese), sendo então obtidas as substâncias com estruturas químicas semelhantes a compostos Lyso-PAF-análogos (Figura 14) (BATISTA *et al.*, 2010 a,b; 2011; 2014).

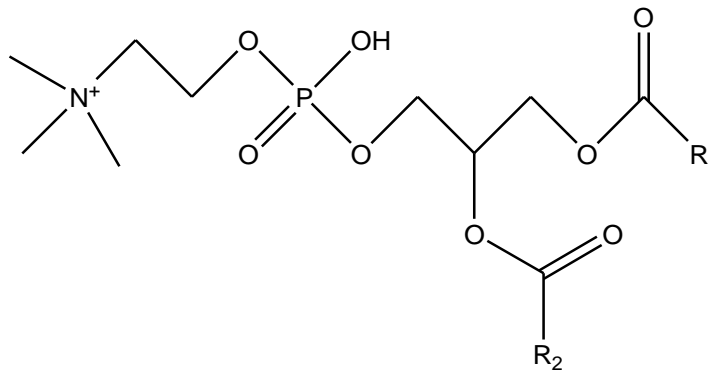


FIGURA 11. Lecitinas de soja

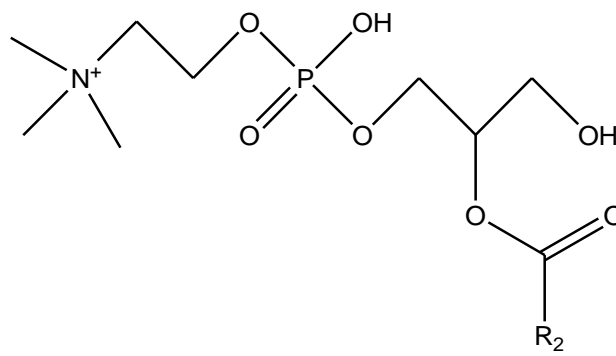


FIGURA 12. 1-hidroxi-2-O-acil-sn-glicero-3- fosfocolinas

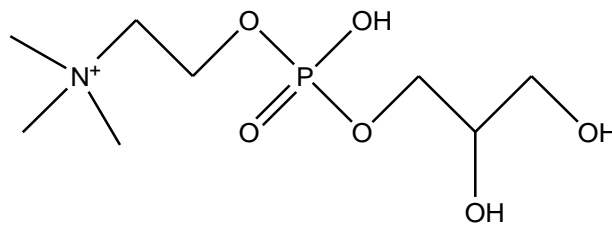


FIGURA 13. 1,2-diidroxi-sn-glicero-3-fosfocolinas

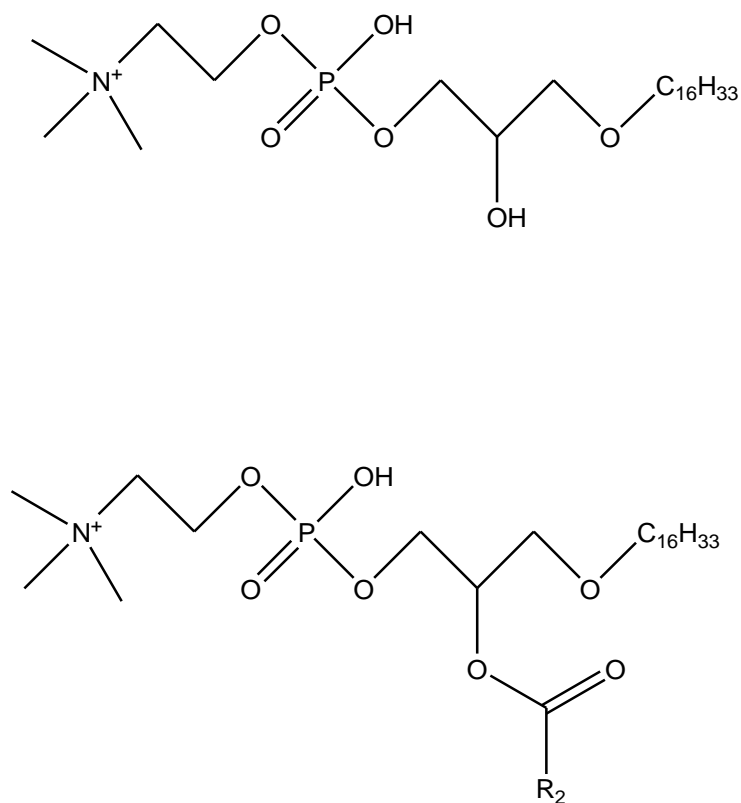


FIGURA 14. Glicerofosfolípídios PAF análogos.

2 – Material e método

2.1 – Metanólise

A um reator de vidro de 2000 mL (5 juntas 24x40 mm) equipado com agitador mecânico tipo haste e hélice, adicionou-se 1000 mL de metanol anidro, 3,0 g de sódio metálico lentamente e, sob agitação constante e à temperatura ambiente, aguardou-se a total dissolução do sódio metálico e término da evolução de hidrogênio. Após, adicionou-se 40 g de lecitina de soja. Aguardou-se a reação por 48 horas (Reação representada pelo esquema mostrado na figura 15).

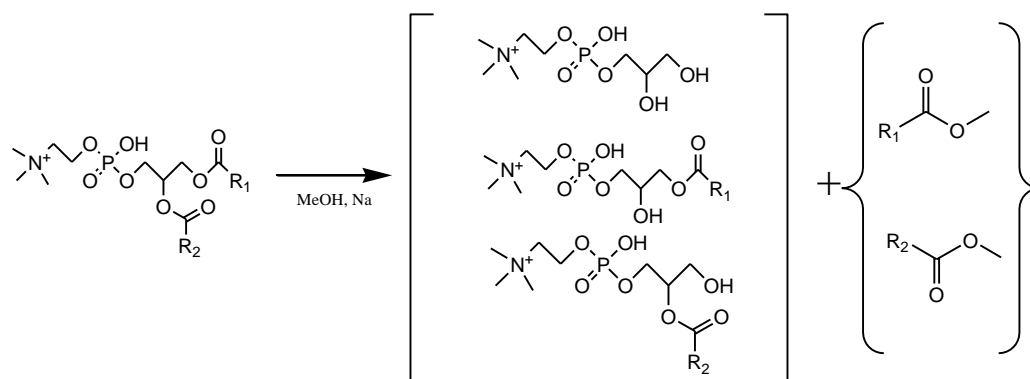


FIGURA 15. Esquema representando possíveis produtos da reação de metanólise a partir da lecitina de soja. Produto principal [Lyso-glicerofosfolinas]. Produto secundário {metil-ésteres}

Verificou-se o final da reação por cromatografia de camada delgada (TLC) com eluente acetato de etila 20% em hexano e revelador sulfato de cério (IV) (Figura 16).

Filtrou-se o produto em funil de Büchner, descartou-se o sólido, transferiu-se a fase líquida para um balão de fundo redondo de 500 mL, evaporando o solvente aos poucos, e adicionou-se 300 mL de diclorometano. Reservou-se em geladeira por 2 dias para precipitação.

Filtrou-se o produto em funil de Büchner e transferiu-se o sólido a balão redondo tarado. Ao balão com o resto do produto, adicionou-se 30 mL de hexano e evaporou-se. Raspou-se produto para balão tarado e colocou-se este em alto-vácuo até peso constante.

2.2 – Alquilação

Ao produto da metanólise, para cada grama das Lyso-lecitas, adicionou-se 36 mg de hidrogenossulfato de tetrabutilamônio, 1,7 mL de dicloroetano, 0,8 mL de 1-bromohexadecano e 0,5 g de hidróxido de sódio dissolvido em 0,5 mL de água. Aguardou-se a reação por 2 dias sob agitação constante e à temperatura ambiente (Reação representada pelo esquema mostrado na figura 16).

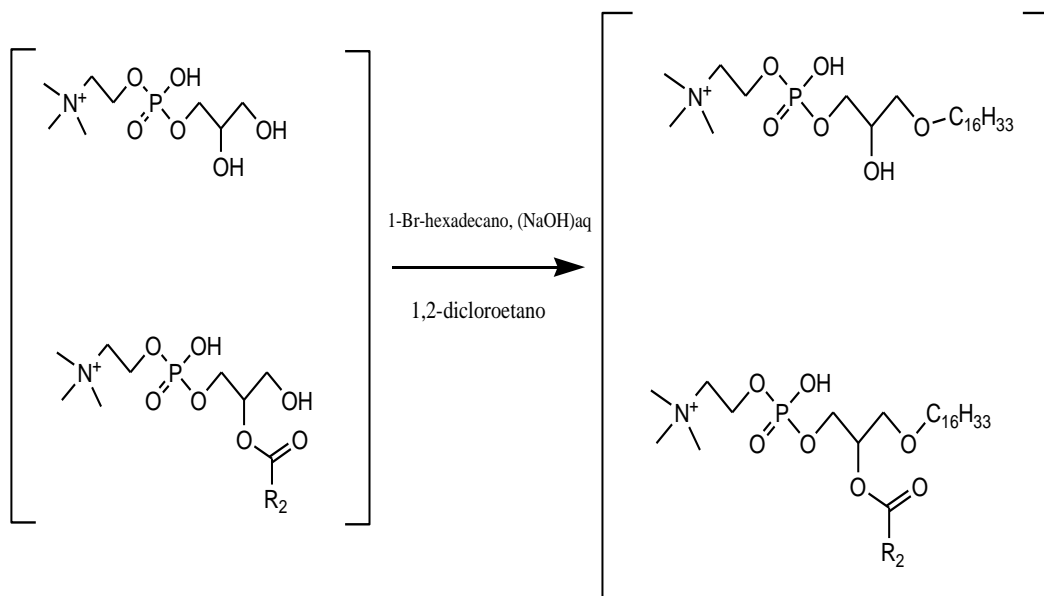


FIGURA 16. Esquema representando possíveis produtos do tipo PAF-análogos obtidos da reação de alquilação a partir de Lyso-glicerofosfocolinas.

Adicionou-se 30 mL de hidróxido de amônio concentrado para remoção do excesso de brometo de cetila. Aguardou-se por 24.0 horas sob agitação constante e a temperatura ambiente.

Filtrou-se o produto, transferindo-o para um funil de separação e lavando o balão 3 vezes com 50 mL de hexano. Realizou-se extração líquido-líquido com porções de 50 mL de salmoura até pH = 7 da água de extração. Na próxima etapa secou-se fase orgânica com Na₂SO₄ anidro e filtrou-se transferindo para balão de fundo redondo.

Evaporou-se o solvente e transferiu-se para balão de fundo redondo menor tarado. Em seguida lavou-se o balão anterior com a menor quantidade de hexano possível, transferindo o produto para um balão menor. Evaporou-se o solvente e deixou-se em alto-vácuo até peso constante.

3 – Resultados e discussão

3.1 – Obtenção e caracterização dos produtos

Esclarece-se que a escolha das lecitinas de soja como matéria-prima para a síntese deveu-se a três principais fatores: disponibilidade comercial do produto em baixo custo; custos competitivos para uma futura produção na escala industrial de multitoneladas e ainda podemos destacar a estrutura química desta matéria prima que é muito similar aos PAF análogos. No Brasil, tendo em vista a intensiva produção de soja e de refino de seu óleo, gera quantidades consideráveis de lecitinas de soja, um subproduto deste refino, a sua disponibilidade pode ser considerada abundante em nosso país. Com relação aos custos, as lecitinas de soja comerciais são atualmente comercializadas a 1/10 do preço dos óxidos de cobre e zinco normalmente usados em tintas antiincrustantes; adicionalmente, as estruturas químicas das lecitinas de soja permitem uma rota de síntese viável para a obtenção de PAF análogos, relativamente fácil e mais direta, necessitando de somente duas etapas, uma metanólise seguida de uma alquilação, as quais por sua vez também empregam materiais de baixo custo, como metanol, hidróxido de sódio, brometo de cetila e outros.

Da reação de metanólise foi obtido um sólido tendo aspecto amarelado, de consistência macia e odor levemente rançoso (Figura 17). O rendimento foi de 27,02 g (99%).



FIGURA 17. Aspecto físico do produto principal obtido da reação de metanólise da lecitina (Lyso-lecitina)

A partir da reação de alquilação foi obtido um líquido viscoso, de cor amarela com leve tonalidade marrom (Figura 18). O rendimento desta etapa foi de 9,47 g (35%).



FIGURA 18. Aspecto físico do produto obtido na reação de alquilação da Liso-
lecitina.

Foram obtidos espectros de RMN de hidrogênio e carbono treze para ambos os produtos obtidos neste trabalho (Figuras 19 e 20), os quais foram idênticos quando comparados com a literatura (BATISTA et al., 2010 a,b; 2011; 2014). Para obtenção dos espectros de RMN de hidrogênio e carbono treze das Lyso-lectinas, o solvente utilizado foi o óxido de deutério. No produto da alquilação, o éter das glicerofosfocolinas, foi usado o clorofórmio deuterado.

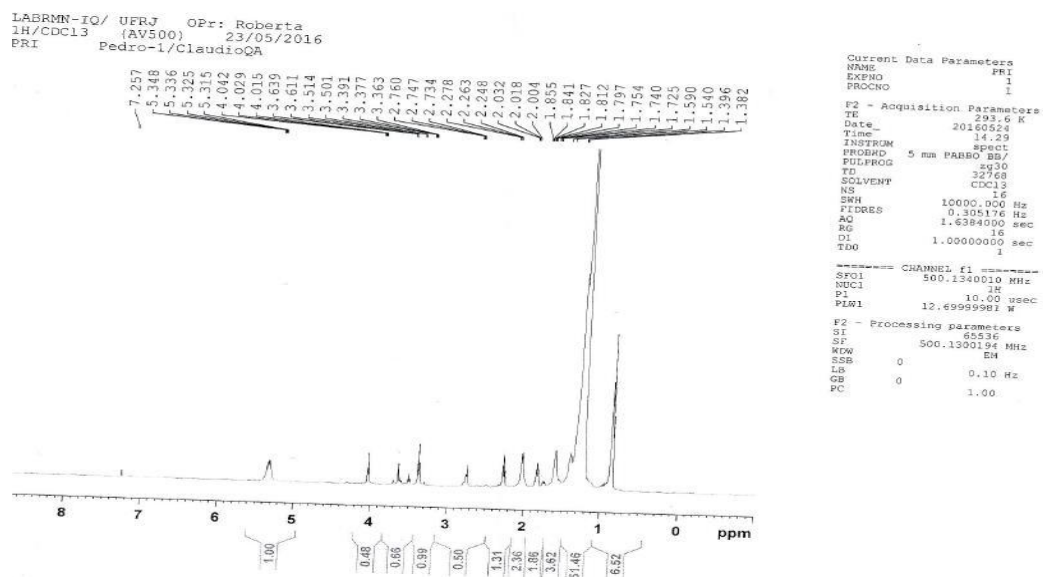


FIGURA 19. Espectro de RMN de hidrogênio do éter de glicerofosfocolina (produto da reação de alquilação)

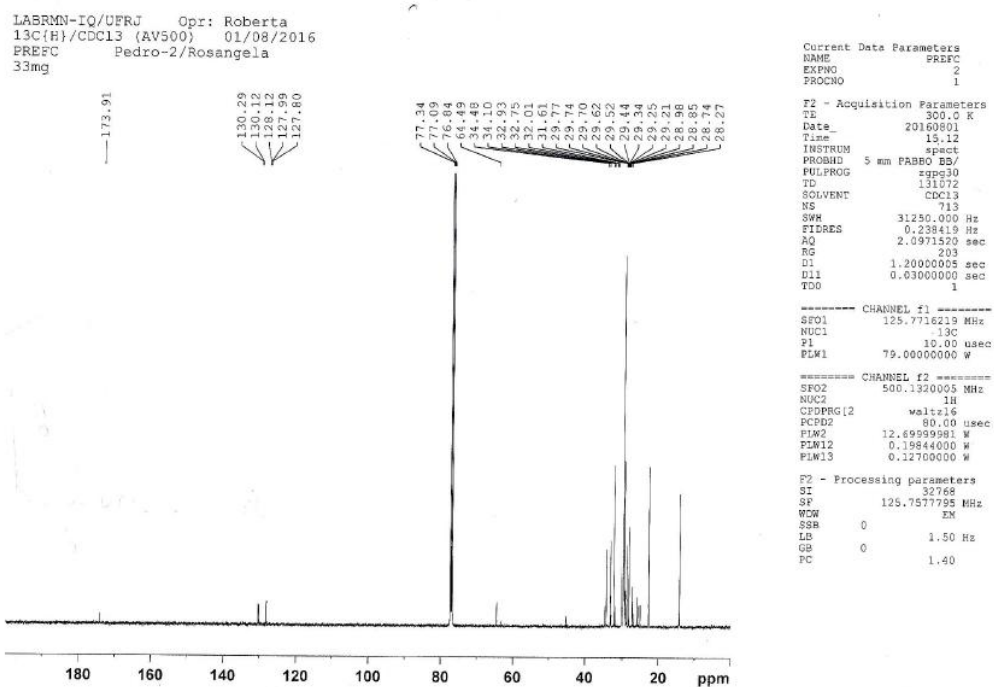


FIGURA 20. Espectro de RMN de carbono treze do éter de glicerofosfocolina (produto da reação de alquilação)

3.2 – Testes de campo

Um procedimento comparativo foi realizado entre os quatro diferentes revestimentos antiincrustantes e um revestimento de controle, os quais foram aplicados em placas de aço carbono (corpos-de-prova) medindo (15cm x 30cm). Os corpos-de-prova, mantidos em submersão estática na Baía da

Guanabara – RJ, foram avaliados quanto à presença de limo e cracas, depois de passado um período de três semanas e, complementarmente, após oito semanas de imersão.

Todos os corpos-de-prova foram preparados pela empresa International Tintas – Akzo Nobel, empregando tinta base isenta de cobre, o produto sintetizado e aditivos biocidas (boosters), de sua linha comercial, tendo sido preparados os seguintes revestimentos:

A - Tinta antiincrustante comercial *Mícron premium* (isenta de cobre) tendo o produto de síntese a (5% p/p) mais o biocida *Econea₂* de linha comercial a (2% p/p) como biocidas coadjuvantes;

B - Tinta antiincrustante comercial *Mícron Premium* tendo somente o produto de síntese (5% p/p) como biocida coadjuvante;

C - Tinta antiincrustante comercial *Mícron Premium* tendo somente o biocida *Econea* (2% p/p) como biocida coadjuvante;

D - Tinta antiincrustante comercial *Mícron Premium* tendo o produto de síntese (10% p/p) mais o biocida *Econea* de linha comercial (2% p/p) como biocidas coadjuvantes; e

E - Controle sem antiincrustante – Tinta marítima anticorrosiva *Intertuf Vinyl*

Em todos os revestimentos utilizados, com exceção daquele sem produto biocida (Revestimento E), foi observado uma ótima inibição do desenvolvimento de limo e da fixação de cracas. As figuras 21 a 25 apresentam as condições observadas após uma imersão contínua de 3 e 8 semanas na Baía da Guanabara.

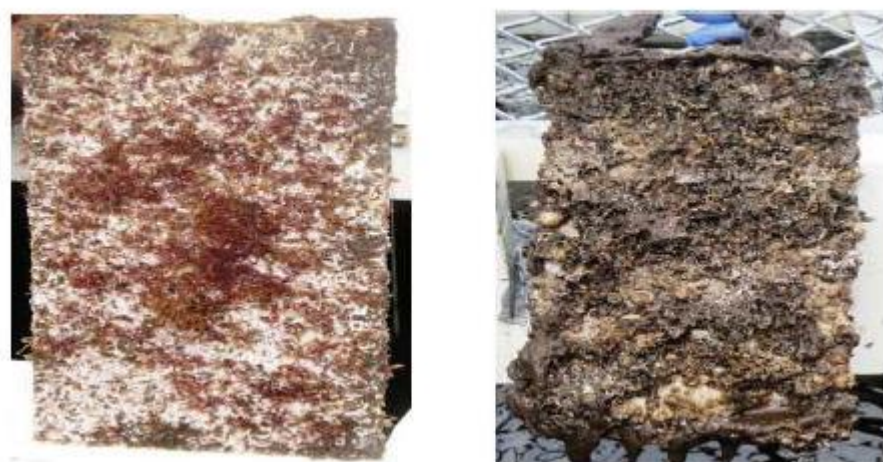


FIGURA 21. Revestimento E (controle negativo). 03 semanas de imersão (esquerda) e 08 semanas de imersão (direita). Fotos cedidas pela empresa International Tintas – Akzo Nobel

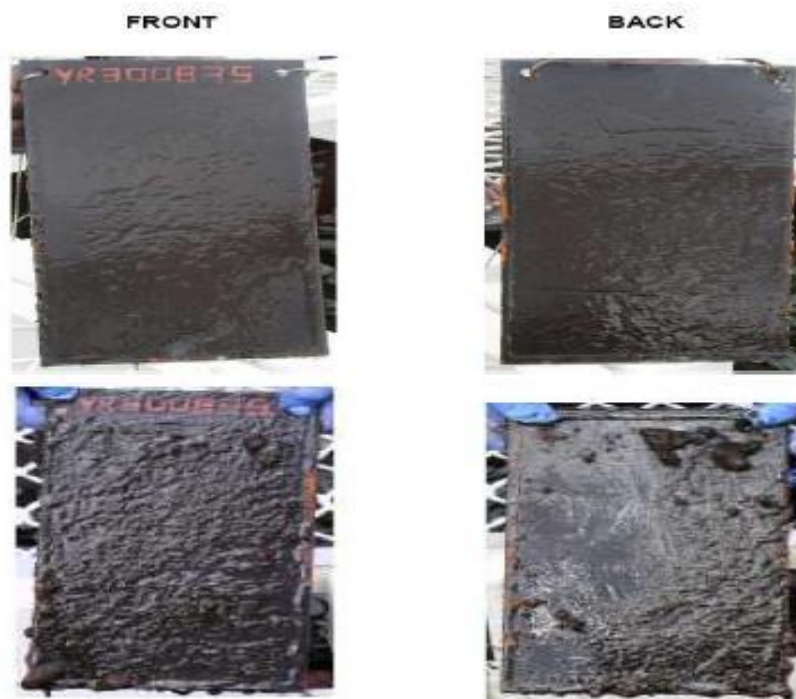


FIGURA 22. Corpos-de-prova pintados com o revestimento A. 3 semanas de imersão (superior) e 8 semanas de imersão (inferior).
Fotos cedidas pela empresa International Tintas – Akzo Nobel

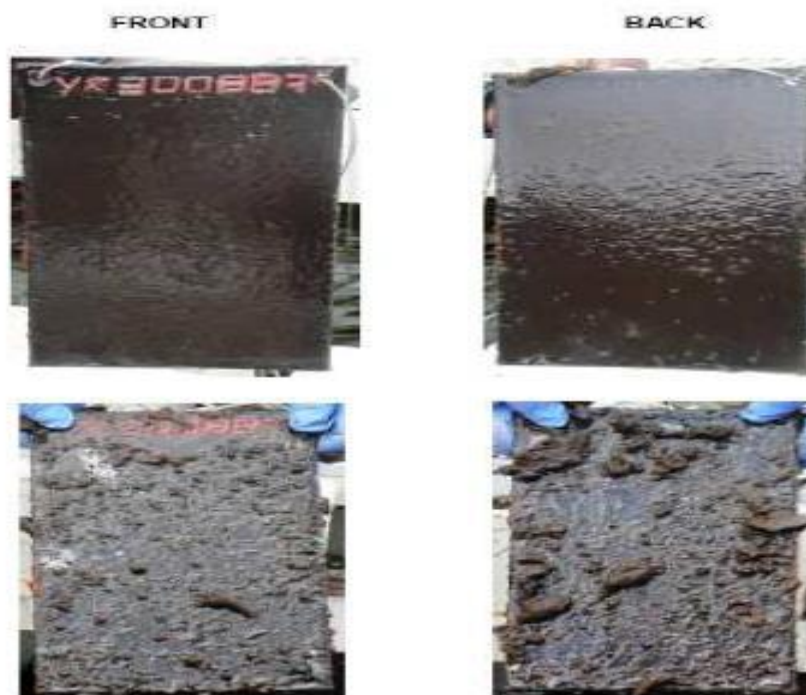


FIGURA 23. Corpos-de-prova pintados com o revestimento B. 3 semanas de imersão (superior) e 8 semanas de imersão (inferior).
Fotos cedidas pela empresa International Tintas – Akzo Nobel

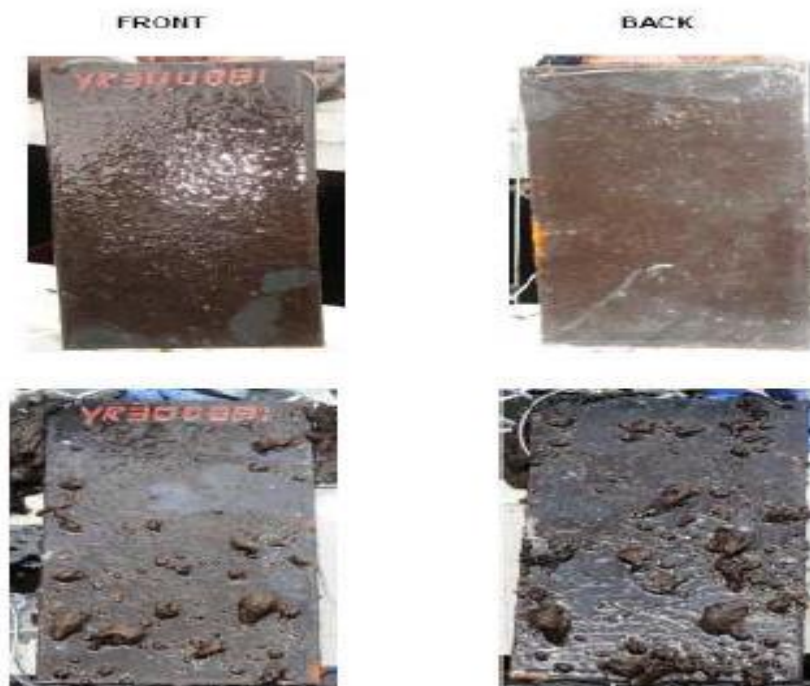


FIGURA 24. Corpos-de-prova pintados com o revestimento C. 3 semanas de imersão (superior) e 8 semanas de imersão (inferior).
Fotos cedidas pela empresa International Tintas – Akzo Nobel

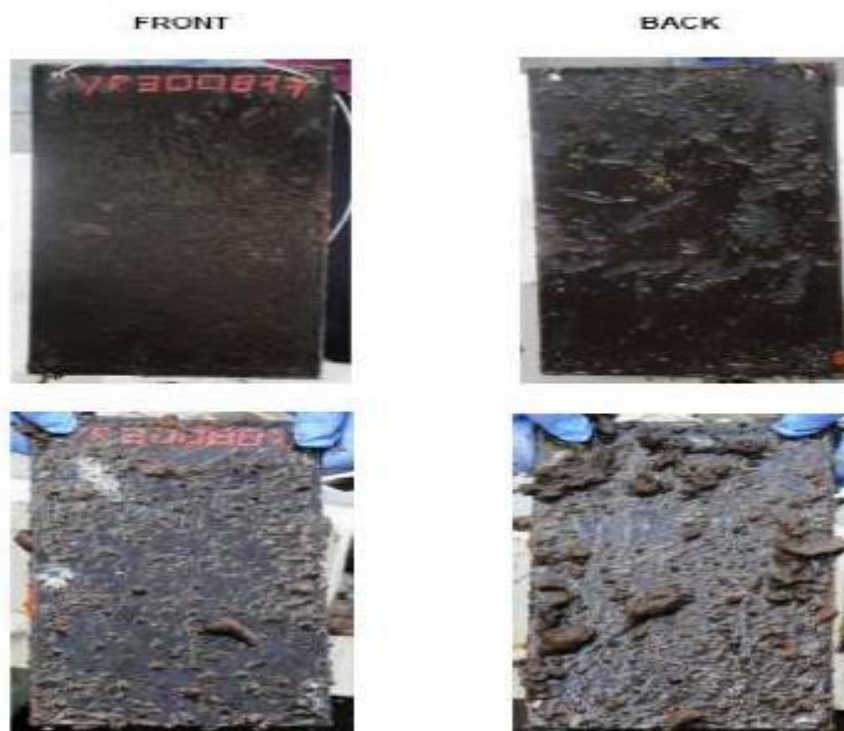


FIGURA 25. Corpos-de-prova pintados com o revestimento D. 3 semanas de imersão (superior) e 8 semanas de imersão (inferior).
Fotos cedidas pela empresa International Tintas – Akzo Nobel

Foram realizados testes das propriedades biocidas da Lyso-lecitas para uso em águas de lastros de embarcações. Foi analisada a inibição da população da espécie *Prorocentrum minimum* (Figura 26), uma espécie tóxica ao ser

humano devido a produção da hepatotoxina venerupina, em diversas concentrações do derivado das lecitinas de soja ao longo de três dias (Figuras 27 e 28). Os testes foram realizados no Smithsonian Environmental Research Center (SERC), Maryland, Estados Unidos (Figura 29), demonstrou um grande potencial de utilização das Liso-lecitas no processo de tratamento de águas de lastros com o objetivo de impedir a introdução de espécies invasoras ao meio ambiente marinho nos países que mantêm um comércio de cargas através de embarcações de grande porte.

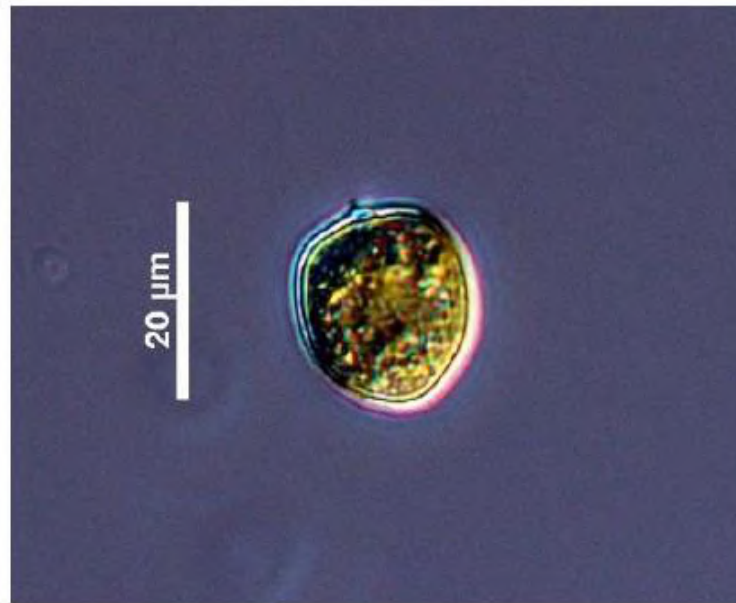


FIGURA 26. A alga verde invasora *Prorocentrum minimum*.

Date	Concentration	R1	R2	R3	Avg	StdDev	s.e.
23/mai/17	0 ppm	1950	2500	2090	2180	285,832	165,025
23/mai/17	50 ppm	134	126	212	157,333	47,5114	27,4307
23/mai/17	100 ppm	71	66	64	67	3,60555	2,08167
23/mai/17	200 ppm	39	47	73	53	17,7764	10,2632
23/mai/17	400 ppm	79	76	80	78,3333	2,08167	1,20185
24/mai/17	0 ppm	1930	1750	2340	2006,67	302,379	174,579
24/mai/17	50 ppm	125	42	53	73,3333	45,0814	26,0278
24/mai/17	100 ppm	21	11	6	12,6667	7,63763	4,40959
24/mai/17	200 ppm	7	3	2	4	2,64575	1,52753
24/mai/17	400 ppm	0	7	2	3	3,60555	2,08167
25/mai/17	0 ppm	1190	1800	1010	1333,33	414,045	239,049
25/mai/17	50 ppm	75	25	24	41,3333	29,1605	16,8358
25/mai/17	100 ppm	5	3	6	4,66667	1,52753	0,88192
25/mai/17	200 ppm	0	0	0	0	0	0
25/mai/17	400 ppm	0	0	0	0	0	0

FIGURA 27. Tabela de resultados de inibição de *Prorocentrum minimum* na presença de Lyso-lecitas.

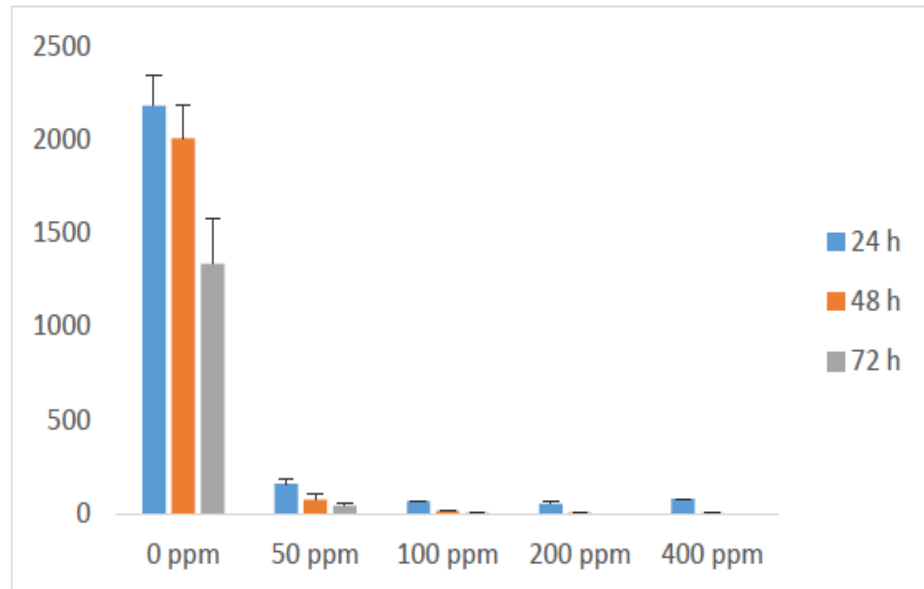


FIGURA 28. Gráfico dos resultados de inibição de *Prorocentrum minimum* na presença de Lyso-lectinas.



FIGURA 29. SERC – Smithsonian Environmental Research Center, Maryland, USA.

4 – Conclusão

Glicerofosfolipídios PAF-análogos podem ser satisfatoriamente sintetizados a partir das lecitinas de soja, sendo estes produtos de síntese ativos biologicamente e de possível incorporação na produção de tintas marítimas antiincrustantes. Os testes de campo demonstraram que o produto de síntese, em substituição aos biocidas organometálicos convencionais, apresentou uma melhor eficiência na redução dos organismos incrustantes e apresentaram uma promissora atividade antiincrustante, com significativa redução da cobertura dos macrorganismos incrustantes quando comparados com os controles negativos (sem biocida).

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que a proposição de uso destas substâncias como aditivo biocida, considerando seu bom desempenho antiincrustante, seu apelo natural e a exequibilidade operacional da síntese - utilizando lecitinas de soja, um resíduo da produção de óleo de soja comestível e de biodiesel, como matéria prima do processo, apresenta-se como uma alternativa viável na produção de tintas antiincrustantes.

Uma nova perspectiva de aplicação foi demonstrada neste trabalho no tratamento de águas de lastro, com o objetivo de prevenir a proliferação de espécies invasoras, observou-se a inibição do crescimento em concentrações em torno de 400 ppm das Lyso-lecitinas, da alga verde *Prorocentrum minimum*, causadora de problemas hepatotóxicos em seres humanos.

5 – Referências bibliográficas

1. ARCE, F.T. et al. A live bioprobe for studying diatom-surface interactions. *Biophysical Journal*, v.87, p. 4284-4297. 2004.
2. BATISTA, W.R.; LOPES, C.C; LOPES, R.S.C; et al. Glicerofosfolipídios sintéticos para uso como aditivo biocida em tintas anti-incrustante. *Química Nova* (2012). Disponível on line. <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20150101>.
3. BHADURY, P. e WRIGHT, P.C. Exploitation of marine algae: biogenic compounds for potential antifouling applications. *Planta*, v.219, p.561-578. 2004.
4. BHASKAR, P.V. e BHOSLE, N.B. Microbial extracellular polymeric substances in marine biogeochemical process. *Current Science*, v.88, n.1, p.45-53. 2005.
5. BORENSTEIN, S.W. *Microbiologically influenced corrosion handbook*. England: Woodhead publishing Ltd. 1994. 291p. ISBN 1855731274.
6. CALLOW, M.E. e CALLOW, J.A. Marine biofouling: a sticky problem. *Biologist*, v.49, p.1-5. 2002.
7. CALLOW, M.E. e CALLOW, J.A. Biofilms. In: *Progress in Molecular and Subcellular Biology*. Subseries: Marine Molecular Biotechnology. p.141-169.
8. CHAMP, M.A. A review of organotin regulatory strategies, pending actions, related costs and benefits. *The Science of the Total Environment*, v.258, p.21-71. 2000.
9. D'ARRIGO, P. e SERVI, S. Synthesis of lysophospholipids. *Molecules*, v.15, p.1351-1377. 2010.
10. D'ARRIGO, P., et al. A practical selective synthesis of mixed short/long chains glycerophosphocholines. *Chemistry and Physics of Lipids*, v.147, p.113-118. 2007.
11. FLEMMING, H-C. ; GRIEBE, T, e SHAULE, G. Antifouling strategies in technical systems – a short review. *Water Science and Technology*, v.34, n.5-6, p.517-524. 1996.
12. FRUHWIRTH, G.O.; LOIDL, A. e HERMETTER, A. Oxidized phospholipids: From molecular properties to disease. *Biochimica et Biophysica Acta*, v.1772, p.718-736. 2007.
13. FUSETANI, N. e Clare, A.S. (Editores): *Antifouling Compounds*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag. 2006.
14. FUSETANI, N. Biofouling and antifouling. *Natural Product Reports*, v.21, p.94-104. 2004.
15. FUSETANI, N. Antifouling marine natural products. *Natural Product Reports*, v. 28, p.400-410. 2011
16. GIPPERTH, L. The legal design of the international and European Union ban on tributyltin antifouling paint: direct and indirect effects. *Journal of Environmental Management*, v.90, p.S86-S95. 2009.
17. GOREISCH, H.H.; et al., The effect of phosphorylcholine-coated materials on the inflammatory response and fibrous capsule formation: In vitro and in vivo observations. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.68A, p.1–9. 2004.
18. ICHIHARA, K. et al. Synthesis of phosphatidylcholine: An improved method without using the cadmium chloride complex of *sn*-glycero-3-phosphocholine. *Chemistry and Physics of Lipids*, v.137, p.94-99. 2005.
19. IWASAKI, Y e ISHIHARA, K. Phosphorylcholine-containing polymers for biomedical applications. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v.381, p.534-546. 2005.

20. JONES, N.C. e OSBORN, M.J. Interaction of salmonella typhimurium with phospholipid vesicles. Incorporation of exogenous lipids into intact cells. The Journal of Biological Chemistry, v.252, n.20, p.7398-7404. 1977,a.
21. JONES, N.C. e OSBORN, M.J. Translocation of phospholipid between the outer and inner membranes of salmonella typhimurium. The Journal of Biological Chemistry, v.252, n.20, p.7405-7412. 1977,b.
22. KOEBNIK, R.; LOCHER, K.P. e GELDER, V. Structure and function of bacterial outer membrane proteins: barrels in a nutshell. Molecular Microbiology, v.37, p.239-253. 2000.
23. MARATHE, G.K. *et al.* Lysophosphatidylcholine and lyso-PAF display PAF-like activity derived from contaminating phospholipids. Journal of Lipid Research, v.42, p.1430-1437. 2001.
24. MARECHAL, J-P. e HELLIO, C. Challenges for the development of new non-toxic antifouling solutions. International Journal of Molecular Science, v.10, p.4623-4637. 2009.
25. NIKAIDO, H. e VAARA, M. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. Microbiological Reviews, v.49, n.1, p.1-31. 1985.
26. NIKAIDO, H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. Microbiology and Molecular Biology Reviews, v.67, n.4, p.593-65. 2003.
27. PRESCOTT, S.M.; ZIMMERMAN, G.A. e McINTYRE, T.M. Platelet-activating factor. The Journal of Biological Chemistry, v.265, n.29, p.17381-17384. 1990.
28. Przetalski, S.; Sarapuk J.; Kleszczyńska H.; Gabrielska J.; Hladyszowski J.; Trela Z.; Kuczera J.; Acta Biochim. Pol. 2000, 47, 627, nº3.
29. PROPELLER magazine. International Marine Coatings. Coatings technology: fouling. n.17. Março 2004. Disponível em: <<http://www.international-marine.com>>. Acesso em: jan.2005.
30. QIAN, P-Y.; XU, Y. e FUSETANI, N. Natural products as antifouling compounds: recent progress and future perspectives. Biofouling, v.26, n.2, p.223-234. 2010.
31. SARIRI, P.R. e TOOSI, A.E.K. Lecithin treatment to prevent protein adsorption onto contact lenses. Russian Journal of Organic Chemistry, v.39, n.4, p.471-474. 2003.
32. SONAK, S. *et al.* Implications of the ban on organotin for protection of global coastal and marine ecology. Journal of Environmental Management, v.90, p.S96-S108. 2009.
33. TESTET, E. *et al.* Nonenzymatic synthesis of glycerolipids catalyzed by imidazole. Journal of Lipid Research, v.43, p.1150-1154. 2002.
34. TOKUMURA, A. *et al.* Novel molecular analogues of phosphatidylcholines in a lipid extract from bovine brain: 1-long-chain acyl-2-short-chain acyl-sn-glycero-3-phosphocholines. Journal of Lipid Research, v.30, p.219-224. 1989.
35. TOKUMURA, A. *et al.* Structural identification of phosphatidylcholines having an oxidatively shortened linoleate residue generated through its oxygenation with soybean or rabbit reticulocyte lipoxygenase. Journal of Lipid Research, v.41, p.953-962. 2000.
36. TOKUMURA, A. A family of phospholipids autacoids: occurrence, metabolism and bioactions. Progress in Lipid Research, v.34, n.2, p.151-184. 1995.
37. WATANABE, J. e ISHIHARA, K. Establishing ultimate biointerfaces covered with phosphorylcholine groups. Colloids and surfaces B: Biointerfaces, v.65. p.155-165. 2008.
38. VENABLE, M.E. *et al.*, Platelet-activating factor: a phospholipid autacoid with diverse actions. Journal of Lipid Research, v.34, p.691-702. 1993.

39. WELCH, E.J. *et al.* Opposing Effects of Platelet-Activating Factor and Lyso-Platelet-Activating Factor on Neutrophil and Platelet Activation. *Molecular Pharmacology*, v.75, p.227-234. 2009.
40. WISSNER, A. *et al.* Analogues of platelet activating factor 5. multiple oxygen substitution of the alkoxy chain. *Journal of Medicinal Chemistry*, v.29, p.1315-1319. 1986.
41. XU, J-P. *et al.* Construction of phospholipid anti-biofouling multilayer on biomedical PET surfaces. *Applied Surface Science*, v.255, p.538-540. 2008.
42. YEBRA, D.M.; KIIL, S. e DAM-JOHANSEN, K. Antifouling technology - past, present and future steps towards efficient and environmentally friendly antifouling coatings. *Progress in Organic Coatings*, v.50, p.75-104. 2004.
43. YEBRA, D.M. *et al.* Effects of marine microbial biofilms on the biocide release rate from antifouling paints - a model-based analysis. *Progress in Organic Coatings*, v.57, p.56-66. 2006.
44. ZHOU, X. *et al.* 1-O-Octadecyl-2-O-methyl-glycerophosphocholine inhibits the transduction of growth signals via the MAPK cascade in cultured mcf-7 cells. *Journal of Clinical Investigation*, v.98, n.4, p.937-944. 1996.