

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM BIOENERGIA

ANELIZE FELICIO RAMOS

Tabernaemontana catharinensis COMO ADITIVO ANTIOXIDANTE EM BIODIESEL
DE SOJA

PONTA GROSSA
2018

ANELIZE FELICIO RAMOS

Tabernaemontana catharinensis COMO ADITIVO ANTIOXIDANTE EM BIODIESEL
DE SOJA.

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre na Universidade Estadual de Ponta Grossa, no programa de Pós-Graduação em Bioenergia, área de concentração em Biocombustíveis.

Orientadora: Prof. Dra. Maria Elena Payret Arrúa.

Co-orientador: Prof. Dr. Pedro Henrique Weirich Neto.

PONTA GROSSA
2018

Ficha Catalográfica
Elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação BICEN/UEPG

R175 Ramos, Anelize Felício
 Tabernaemontana catharinensis como
 aditivo antioxidante em biodiesel de soja/
 Anelize Felício Ramos. Ponta Grossa, 2018.
 80f.

 Dissertação (Mestrado em Bioenergia -
 Área de Concentração: Biocombustíveis),
 Universidade Estadual de Ponta Grossa.

 Orientadora: Prof^a Dr^a Maria Elena
 Payret Arrúa.

 Coorientador: Prof. Dr. Pedro Henrique
 Weirich Neto.

 1.Antioxidantes naturais.
 2.Estabilidade oxidativa. 3.Cobrina.
 I.Payret Arrúa, Maria Elena. II. Weirich
 Neto, Pedro Henrique. III. Universidade
 Estadual de Ponta Grossa. Mestrado em
 Bioenergia. IV. T.

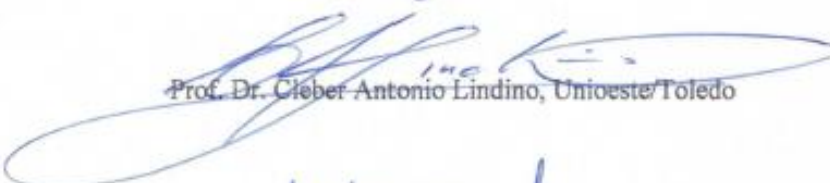
CDD: 662.755

ANELIZE FELICIO RAMOS

***"Tabemaemontana catharinensis* COMO ADITIVO ANTIOXIDANTE EM
BIODIESEL DE SOJA"**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-graduação em Bioenergia, área de concentração em Biocombustíveis, da Universidade Estadual de Ponta Grossa pela banca examinadora abaixo assinada:


Prof.^a Dr.^a Maria Elena Payret Arrua, UEPG/Ponta Grossa


Prof. Dr. Cleber Antonio Lindino, Unioeste/Toledo


Prof. Dr. Jaime Alberti Gomes, UEPG/Ponta Grossa

Ponta Grossa, 22 de fevereiro de 2018

Dedico a minha mãe Marlene, minha avó Olga por ensinarem a importância da educação e ao meu marido Jhonny pelo incentivo e compreensão.

AGRADECIMENTOS

A Deus.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa e ao Programa de Pós Graduação em Bioenergia pela oportunidade de realizar este estudo.

Às professoras Dr^a. Maria Elena Payret Arrúa e Dr^a. Sandra Regina Masetto Antunes, pela contribuição de seus conhecimentos e sugestões na orientação desta dissertação.

Ao Prof. Dr. Pedro Henrique Weirich Neto pelas orientações e incentivos, e por ser um exemplo altruísta admirável.

Aos meus queridos colegas de mestrado Bruna, Daniel, Eduardo, Luis e Maghnon, por serem os melhores! Agradeço o trabalho em equipe, pela parceria mutua e continua e por tornar estes intensos dois anos marcantes.

Aos meus colegas do laboratório LACBIO e colegas da UEPG em especial ao Carlos, Edson, Franciele, José Osmar, Lucas, Raphaela e Valdirene pelo apoio e contribuições.

Aos meus familiares, amigos e colegas pelo incentivo e aconchego, em especial a minha mãe Marlene por sempre me incentivar a estudar, ao meu pai *In memoriam*, ao meu marido pela compreensão, incentivo e amor, minhas irmãs, Audinéia e Nilcéia, por sempre serem um exemplo, minhas amigas Jessica e Mariele pelas palavras motivadoras e o abraço amigo.

Aos professores doutores Mariza Boscacci Marques, Eder Carlos Ferreira de Souza e Luis Claudio Garcia pela colaboração de informações que auxiliaram na concretização deste estudo.

Ao C-labmu pela realização de diversas análises para o trabalho.

Ao professor Dr Dionísio Borsato pela valiosa colaboração nas análises de amostras do trabalho.

Ao professor Dr Paulo Rogério Pinto Rodrigues, ao Dr Guilherme Arielo Rodrigues Maia e ao Douglas Kais da Silva pela colaboração na execução de análises.

Ao professor Dr Egon Schnitzler e ao Lucas Waiga pela realização das análises térmicas.

Agradeço à CAPES pelo suporte financeiro.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a conclusão desta pesquisa deixo registrado meus agradecimentos. Obrigada!

“Quando o céu estiver em cinza, e derramar-se em chuva, medite na colheita farta
que chegará do campo e na beleza das flores que surgirão no jardim” André Luiz

Resumo

O biodiesel além de um caráter mercadológico possui base social e ambiental, podendo ser considerado uma fonte energética renovável com diversificação de matérias primas e de meios de produção. Para ser comercializado, o biodiesel, deve atender às especificações de qualidade estabelecidas pela ANP como a estabilidade oxidativa que se relaciona diretamente com a composição, em ácidos graxos, da matéria prima utilizada. Em especial, a presença de ácidos graxos insaturados interfere diretamente sobre a estabilidade oxidativa do biodiesel pois através das ligações múltiplas acontecem as reações de oxidação do mesmo. O uso de aditivos antioxidantes é uma alternativa para aumentar a estabilidade do biocombustível e, a utilização de antioxidantes naturais corrobora com seu caráter biodegradável e sustentável. Neste trabalho verificou-se o potencial antioxidante do extrato metanólico das folhas da *Tabernaemontana catharinensis*, conhecida vulgarmente como cobrina, frente ao biodiesel de soja. Ao misturar biodiesel com o extrato de cobrina em uma determinada concentração observou-se uma variação no período de indução prolongando a estabilidade oxidativa do mesmo. O presente aditivo natural, extrato de cobrina e cobrina potencializado com ácido cítrico, ácido ascórbico e α -tocoferol é considerado ecologicamente correto, não tóxico, biodegradável e renovável e antioxidante para biodiesel, com a capacidade de aumentar o tempo de indução de biodiesel em valores iguais ou superiores à 8h como descrito nas normas da ANP 2017.

Palavras chave: Antioxidantes Naturais, Estabilidade oxidativa, Cobrina.

Abstract

Biodiesel, besides a market character, have a social and environmental basis, and can be considered a renewable energy source with diversification of feedstock and means of production. To be commercialized, biodiesel must meet the quality specifications established by the ANP as Oxidative stability, what is directly related to the composition in fatty acids, of the feedstock used. In particular, the presence of unsaturated fatty acids directly interferes with the oxidative stability of the biodiesel because through the multiple bonds the oxidation reactions take place. The use of antioxidant additives is an alternative to increase the stability of biofuel and the use of natural antioxidants corroborates its biodegradable and sustainable character. In this work the antioxidant potential of the methanolic extract of the leaves of *Tabernaemontana catharinensis*, commonly known as Cobrina was verified in soybean biodiesel. When mixing biodiesel with the Cobrina extract at a certain concentration a variation in the induction period was observed prolonging the oxidative stability of the same. This natural additive, Cobrina extract and Cobrina extract enhanced with citric acid, ascorbic acid and α -tocopherol is considered to be environmentally friendly, non-toxic, biodegradable and renewable and antioxidant for biodiesel. With the capacity to increase the time of induction of biodiesel in values equal to or greater than 8h as described in ANP 2017 standards.

Key words: Natural antioxidant, Oxidative stability, Cobrina

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Gráfico 1: Matérias primas utilizadas para a produção de biodiesel no Brasil em 2017-----	21
Gráfico 2: Matérias primas utilizadas para a produção de biodiesel no Brasil por região-----	22
Gráfico 3: Regressão polinomial dos dados correspondentes aos tratamentos com extrato metanólico-----	61
Gráfico 4: Comparativo do efeito dos antioxidantes comerciais e do efeito sinérgico destes com o extrato de cobraína-----	63
Figura 1: Esquema do mecanismo da reação de transesterificação catalisada por base-----	24
Figura 2: Esquema da reação de Diels Alder -----	29
Figura 3: Representação esquemática do funcionamento do Rancimat-----	31
Figura 4: Esquema de um mecanismo de peroxidação em hidrogênio bis-aliático---	32
Figura 5: Antioxidantes sintéticos -----	36
Figura 6: <i>Tabernaemontana catharinensis</i> -----	41
Figura 7: Curva padrão de TG-----	44
Figura 8: Espectro de RMN de ^1H do biodiesel de soja-----	58
Figura 9: a) Singleto correspondente aos H metilênicos da metoxila do éster e b) Tripleto correspondente aos H metilênicos α à carbonila -----	58
Figura 10: Comparativo dos Espectros de RMN de ^1H do biodiesel de soja (em vermelho) e do biodiesel de soja aditivado com extrato de cobraína (em azul) -----	59
Figura 11: Curvas de TG/DTG do biodiesel de soja-----	65
Figura 12: Curvas de TG/DTG do biodiesel de soja com o extrato de cobraína-----	65
Figura 13: Espectro de infravermelho do biodiesel de soja puro comparado com o biodiesel de soja aditivado com o extrato de cobraína -----	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Comparação da composição do teor de ácidos Graxos em diferentes matérias primas -----	20
Tabela 2: Especificação do Biodiesel segundo as normas da ANP-----	25
Tabela 3: Períodos de indução de biodiesel de soja com antioxidantes naturais na concentração de 1000 ppm, em Rancimat a 110°C-----	38
Tabela4: Perfil de ácidos graxos do biodiesel de soja produzido por cromatografia gasosa-----	54
Tabela 5: Caracterização físico-química do biodiesel de soja, com e sem o extrato metanólico de cobrina -----	55
Tabela 6: Período de indução do biodiesel de soja aditivado com extrato metanólico de cobrina em diferentes concentrações-----	60
Tabela 7: Ação antioxidante de aditivos comerciais e sinergismos entre aditivos comerciais com extrato metanólico de cobrina-----	62

LISTA DE ABREVIações

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas

ANP - Agência Nacional de Petróleo Gás Natural e Biocombustíveis

AOCS - American Oil Chemists ' Society

ASTM -*American Society of Testing and Materials*

B100 - (100% biodiesel)

B8 - (8% de adição de Biodiesel no diesel de petróleo)

BHA - *terc*-Butil-hidroxianisol

BHT-2,6 di-*terc*-Butil-hidroxitolueno

BNDES - Banco Nacional de Desenvolvimento

CEN - Comité Européen de Normalisation

C-LABMU - Complexo de Laboratórios Multiusuários

Conama - Conselho Nacional de Meio Ambiente

CNPE - Conselho Nacional de Política Energética

DPPH - 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

DSC - Calorimetria diferencial exploratória

DTA - Análise térmica diferencial

DTG- Derivada da Termogravimetria

EAG - Equivalente de Ácido Gálico

EPACT- *Energy Policy Act*.

FAME`s – Mistura de ésteres alquílicos de ácidos graxos

H0 - hipótese nula

Ibama - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

ICTAC - Confederação Internacional de Análise Térmica e Calorimetria

Inmetro- Instituto Nacional de Metrologia, qualidade e tecnologia

LI- Límpido e isento de Impurezas

Mtep - toneladas equivalentes de petróleo.

n= - número amostral

PI - Período de Indução

PNPB - Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel

Pr-G - galato de propila

RMN - Ressonância Magnética Nuclear

ROOH - hidroperóxido

SD - Desvio quadrático.

TAG - triacilgliceróis

TBHQ - *terc*-butil-hidroquinona

TG - Termogravimetria

W - Estatística W de Shapiro Wilk

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	13
2- OBJETIVOS	16
2.1- OBJETIVOS GERAIS	16
2.2- OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1 BIODIESEL	17
3.2 MATÉRIAS PRIMAS PARA A PRODUÇÃO DE BIODIESEL	19
3.3 REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO PARA PRODUÇÃO DE BIODIESEL	23
3.4 NORMAS DE QUALIDADE ESTABELECIDAS PARA O BIODIESEL	25
3.5 ESTABILIDADE DO BIODIESEL	27
3.5.1 ESTABILIDADE NO ARMAZENAMENTO	28
3.5.2 ESTABILIDADE TÉRMICA	29
3.5.3 ESTABILIDADE À OXIDAÇÃO	30
3.6 MECANISMOS DE OXIDAÇÃO	31
3.6.1 Auto- oxidação	31
3.6.2 Foto-oxidação	32
3.6.3 Oxidação enzimática	34
3.7 ANTIOXIDANTES	34
3.7.1 <i>Tabernaemontana catharinensis</i>	41
3.8 FENÓIS TOTAIS DO EXTRATO VEGETAL DE COBRINA	42
3.9 ANÁLISE TÉRMICA	44
3.10 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO	42
4- MATERIAL E MÉTODOS	46
4.1. OBTENÇÃO DO EXTRATO DE COBRINA	46
4.2. SOLUÇÃO DE COBRINA PARA EXECUÇÃO DO TRABALHO	46
4.3. DETERMINAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS DO EXTRATO DE COBRINA	46
4.4. PREPARAÇÃO DO BIODIESEL DE SOJA	47
4.5. CARACTERIZAÇÃO DO BIODIESEL DE SOJA	47
4.5.1. Cor e aspecto	47
4.5.2 Massa específica	47
4.5.3 Viscosidade cinemática	47

4.5.4 Ponto de fulgor-----	48
4.5.5 Taxa de conversão de triacilglicerídeos em ésteres metílicos-----	48
4.5.6 Determinação do perfil de ácidos graxos-----	49
4.5.7 Estabilidade oxidativa-----	49
4.6. ANÁLISE TÉRMICA-----	50
4.7. ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER-----	50
4.8 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL -----	50
5-RESULTADOS E DISCUSSÃO-----	52
5.1 POLIFENÓIS TOTAIS DO EXTRATO DE COBRINA-----	52
5.2 CARATERIZAÇÃO DO BIODIESEL DE SOJA-----	54
5.2.1 Determinação do perfil de ácidos graxos-----	54
5.2.2 Caracterização físico-química do biodiesel de soja-----	55
5.2.3 Taxa de conversão em Ésteres-----	57
5.2.4 Estabilidade Oxidativa do biodiesel de soja-----	59
5.3 ANÁLISE TERMICA-----	64
5.4 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER-----	66
6-CONCLUSÃO-----	68
7-REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS-----	69

1-INTRODUÇÃO

A substituição da matriz energética atual, com predominância de fontes fósseis, por alternativas renováveis é de interesse mundial. O setor de transporte é um dos maiores poluidores atmosféricos, e as altas taxas de liberação de carbono e outros poluentes, provavelmente relacionadas com as mudanças climáticas, efeito estufa e outros desastres ambientais são evidências da necessidade de alterar o paradigma da dependência do petróleo para o desenvolvimento da sociedade e movimentação do setor financeiro. Alternativas com o uso do biodiesel que é um produto sustentável, renovável e biodegradável podem vir a substituir parcial ou totalmente o diesel de petróleo, proporcionando um equilíbrio entre o meio ambiente, economia e sociedade (HOEKMAN et al., 2012).

A inserção de fontes renováveis no cenário brasileiro está aumentando mesmo que ainda há predominância de exploração de fontes não renováveis. Segundo a Resenha Energética Brasileira de 2017 a disponibilidade de energias não renováveis era de 176,0 toneladas equivalentes de petróleo (Mtep) em 2015 e em 2016 diminuiu para 163 Mtep. Já as fontes renováveis com disponibilidade de 123,3 Mtep em 2015 aumentaram para 125,3 Mtep, o que corresponde em termos de estrutura a 56,5% de energias não renováveis e 43,5% de energias renováveis, sendo 40,1% das últimas referentes à participação do etanol e do bagaço de cana e 2,4% referente ao biodiesel, apontando os biocombustíveis como significativos na redução do uso do petróleo e seus derivados (FILHO et al., 2017).

A implementação do biodiesel no mercado, está amparada pelo Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel (PNPB), promovido pelo governo federal, possuindo como base tecnológica os âmbitos, social, ambiental e mercadológico. O programa visa oferecer um produto que movimenta a economia do país, gerando emprego, incluindo os agricultores familiares abordando a regionalidade das matérias primas disponíveis no país.

Em termos de dimensão espacial – disponibilidade de área de cultivo, condições endofoclimáticas e diversidades de espécies oleaginosas - o Brasil possui potencial agricultável para a produção de biodiesel, a partir do aproveitamento de diversas matérias primas produzidas em todo o país (MARTINS; RAMOS; TORQUATO, 2007). As espécies mais cultivadas para produção de Biodiesel são algodão, amendoim, canola, crambe, dendê, girassol, mamona, pinhão manso e soja (TRZECIAK, et. al. 2008). Sendo a soja o destaque na produção de acordo com o

anuário estatístico da Agência Nacional de Petróleo Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) (2017) devido ao conhecimento tecnológico existente para o plantio e à sua disponibilidade.

Cada matéria prima comporta propriedades físico-químicas, características, as quais devem ser consideradas na produção do biodiesel por estarem diretamente relacionadas com a qualidade do produto (BERGMANN et al. 2013; LÔBO, et al., 2009).

A comercialização do biocombustível é assegurada por lei, em 2017 a porcentagem obrigatória de biodiesel no diesel de acordo com a lei nº 13.263 de 23/03/2016 é de 8% (B8). Em contrapartida o biodiesel B100 ainda não é utilizado, devido à necessidade de aprimoramento do produto em relação à qualidade das emissões na queima, o desempenho, a integridade do motor e a segurança no transporte e manuseio, bem como as possíveis degradações do produto durante os processos de transporte e estocagem (LÔBO, et al., 2009). Assim sendo, a ANP regulamenta as atividades de produção e comercialização do biodiesel, garantindo a qualidade de acordo com RESOLUÇÃO ANP Nº 45, DE 25.8.2014.

O biodiesel produzido a partir de óleos vegetais possui baixa estabilidade oxidativa quando comparado ao diesel petroquímico, isto se deve à presença de ácidos graxos insaturados na matéria prima. Estes por sua vez, são suscetíveis à reação, de mecanismo radicalar, que resulta na formação de aldeídos, cetonas, ácidos carboxílicos e ésteres de cadeias menores, entre outros (RASHED; et. al. 2015). Este fator, de oxidação modifica as propriedades físico-químicas do produto, principalmente durante os períodos de estocagem, quando submetido às altas temperaturas ou quando exposto ao oxigênio atmosférico, a luz, ou aos micro-organismos e demais precursores da oxidação. Segundo Medeiros et al. (2013), o método mais eficaz para retardar o processo de oxidação de biodiesel, é a adição de antioxidantes.

A indústria de óleo vegetal e biodiesel utiliza aditivos antioxidantes sintéticos e naturais, com diferentes mecanismos de ação para diminuir ou retardar a oxidação dos mesmos de maneira eficaz (YANG et al., 2017). A maioria dos antioxidantes utilizados são classificados como primários ou “*chain breakers*”. Estes, geralmente, são fenólicos ou polifenólicos que promovem remoção ou inativação dos radicais livres durante a iniciação ou propagação da reação, interrompendo a oxidação (BORSATO et al., 2014). Substâncias como, tocoferóis, ácido ascórbico,

carotenoides e flavonóides entre outras, ganham atenção por serem biodegradáveis e não tóxicas na promoção da estabilidade oxidativa (SOUSA; OLIVEIRA; MOURA, 2014). Na maioria dessas substâncias isto se dá pela ação de uma hidroxila ativa, a qual previne a formação e propagação de radicais livres e, conseqüentemente, diminuindo a taxa de oxidação (CREMONEZ, 2016).

De acordo com a literatura a espécie *Tabernaemontana catharinensis* apresenta propriedades antioxidantes investigadas em estudos *in vitro* de doenças neurodegenerativas, como exemplo (BOLIGON et al. 2013). E como constituição química, segundo Piana et al. (2014), possui, flavonoides, alcaloides, taninos condensados, rutina, um glicósido de quercetina e ácido clorogênico, todos reconhecidos como antioxidantes ativos, que podem estabilizar os radicais livres e espécies reativas de oxigênio. Apresentam-se, baseado em suas propriedades já estudadas como uma espécie em potencial para aplicações como aditivo antioxidante sustentável e ecologicamente correto para biodiesel, visando aumentar sua estabilidade oxidativa.

2-OBJETIVOS

2.1 - OBJETIVOS GERAIS

Avaliar as propriedades antioxidantes do extrato de *Tabernaemontana catharinensis* (cobrina) frente ao biodiesel de soja.

2.2 - OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Preparar biodiesel pela reação de transesterificação via catalise homogênea básica, utilizando metanol e óleo de soja.
- Determinar as propriedades físico-químicas do biodiesel produzido.
- Preparar extrato metanólico das folhas de *Tabernaemontana catharinensis*.
- Aplicar o extrato vegetal obtido no biodiesel de soja em diferentes concentrações e, avaliar sua estabilidade oxidativa.

3-REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 BIODIESEL

O uso do biodiesel gradativamente expande-se no mercado, motivado principalmente por questões ambientais e econômicas. O produto teve inserção mercadológica em meados de 1990, quando o uso de biocombustíveis foi incentivado mundialmente com base nas preocupações globais referentes à mudança climática que, provavelmente foi acentuada com o aumento dos gases do efeito estufa. Outro fator que influenciou foi o preço do petróleo bruto elevado no mercado e a suposta redução das fontes petrolíferas mundiais (HOEKMAN et al., 2012). Fatos que contribuíram na época para a inserção de mais uma alternativa de substituição ou redução de fontes energéticas fósseis, sem comprometer com o desenvolvimento da sociedade ou afetando o mercado financeiro.

As mobilizações de cunho ambiental ocorreram de maneira global, uma série de conferências e legislações, assim como, diversos programas de caráter ambiental e de cunho social foram criados para minimizar o uso do petróleo e propondo o desenvolvimento sustentável. Como exemplo de documento norteador o relatório de Brundtland (1987), que visa atender as necessidades do presente sem comprometer as gerações futuras de atenderem as suas necessidades. Assim como, os programas propostos pela USA “Clean Air Act Amendments”, “Reformulated Gasoline Program” e “Energy Policy Act” que encorajaram o uso de combustíveis alternativos na década de 90. Os programas propostos em 2000 na América Latina, com a utilização de misturas de bicomcombustíveis visavam garantir a renda e proporcionar segurança alimentar para agricultores e trabalhadores rurais, Argentina (lei 26.093/2006); Chile (Decreto 11/ 2008); Peru (Lei 28054/2003); Costa Rica (Decreto 31087/2003); Guatemala (Decreto 52/2003) e Colombia (Programa de Biogolina – Lei 693/2001. E no Brasil um dos primeiros programas de caráter sócio ambiental neste aspecto, foi o Pró-álcool, criado para regular a produção de açúcar e reduzir as importações de gasolina, e posteriormente a implementação do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB) (RICO; SAUER, 2015).

O uso de biodiesel iniciou no Brasil na década de 1940, durante a Segunda Guerra Mundial, mas só em 2004, a nova proposta para a produção de biocombustíveis foi introduzida através do PNPB. Este programa através de políticas

publicas visa incluir os pequenos produtores na cadeia de produção do biodiesel, e promover o desenvolvimento regional (PINHO; SUAREZ, 2017).

O PNPB possui como base tecnológica os âmbitos, social, ambiental e mercadológico. Um programa de caráter sustentável, com enfoque na inclusão social e, possui medidas específicas como o “Selo combustível social”, o qual oferece segurança aos agricultores familiares nas vendas pré-estabelecidas de matéria prima para as indústrias de biodiesel, as quais quando enquadradas no projeto tem direito a condições de financiamento junto ao Banco Nacional de Desenvolvimento (BNDES) e outras instituições financeiras e direito de concorrência em leilões de compra de biodiesel (ISOLANI; TONIN, 2013). Do ponto de vista ambiental, mantém a taxa de carbono equilibrada, uma vez que pode se considerar que o carbono emitido no transporte é re- introduzido no ciclo de produção no consumo deste pela matéria prima no seu ciclo de vida, assim como diminui a liberação de enxofre e outros poluentes presentes em grandes quantidades no diesel de petróleo. Do ponto de vista técnico, além de incentivar novas pesquisas e tecnologias para suprir sua demanda no mercado, gera empregos e movimenta a economia (PAULILLO et al., 2007).

Conforme a especificação contida no Regulamento Técnico da ANP nº 2/2003, Art. 2º “o biodiesel é definido como um combustível composto de ésteres mono alquílicos de ácidos graxos de cadeia longa, derivado de óleos vegetais ou de gorduras animais e designado B100” (100% de Biodiesel). Considerando a Lei nº11.097 de 13 de janeiro de 2005, o biodiesel é “um combustível para uso em motores a combustão interna com ignição por compressão, renovável e biodegradável, que pode substituir parcial ou totalmente o óleo diesel de origem fóssil”. Implicações que asseguram uma porcentagem de biodiesel ao diesel e garantem a redução de impactos ambientais ocasionados pela utilização do diesel mineral.

Neste contexto, o biodiesel é um exemplo de possibilidade de alterações dos paradigmas sociais atuais, de modo a aumentar o uso de fontes alternativas com o equilíbrio entre o meio ambiente, economia e sociedade. Tornou-se um dos bicomcombustíveis mais importantes, com base em recursos renováveis, para alcançar as metas de proteção climáticas estabelecidas pela Comissão Europeia no setor de transportes (GUTIÉRREZ-OPPE, 2013). Mas para manter e aumentar sua cadeia

produtiva, além dos aspectos socioambientais, a qualidade do produto deve ser considerada.

3.2 MATÉRIAS PRIMAS PARA A PRODUÇÃO DE BIODIESEL

Quimicamente os óleos vegetais e gorduras animais presentes nas matérias primas utilizadas na produção de biodiesel são triacilglicerídeos, triésteres de ácidos graxos de cadeia longa, ligados a uma molécula de glicerol (MEHER; SAGAR; NAIK, 2006).

Os ácidos graxos saturados possuem um ponto de fusão alto, empacotam-se de maneira eficiente em cristais por meio das forças de Van der Waals e, são sólidos à temperatura ambiente. São chamados de gorduras e, sua conformação tende a ser completamente estendida, minimizando as repulsões intramoleculares. Já quando apresentam insaturações, possuem pontos de fusão mais baixos. A configuração *cis* das ligações duplas de um ácido graxo insaturado impõe maior rigidez à cadeia carbônica, interferindo no empacotamento do cristal, provocando uma redução nas atrações de Van der Waals entre as moléculas (SOLOMONS; FRYHLE, 2004).

O perfil do biodiesel está relacionado com a matéria prima escolhida, em termos de qualidade, custo e viabilidade de produção. O grau de insaturação e o comprimento da cadeia de ácidos graxos influenciam em parâmetros como índice de cetano, viscosidade cinemática, estabilidade oxidativa, ponto de entupimento a frio, emissões do escape, a lubricidade, calor de combustão, índice de iodo, valor de saponificação e densidade (PINZI, et al., 2011). Estas propriedades físico-químicas foram discutidas e comparadas em trabalhos científicos como o de Karmaka; Karmaka; Mukherjee (2010). Nesses trabalhos foram utilizados óleos de canola, soja, girassol, dendê, amendoim, milho, arroz, gergelim, semente de algodão e mamona, *Neem*, *karanja*, *Mahua*, coco, linhaça, tabaco, gordura animal e *Yellow grease*. Foi verificado que, por exemplo, o número de cetano aumenta com o aumento da cadeia de ácidos graxos e com o número de saturações. A densidade do biodiesel está relacionada com o número de insaturações, ésteres com mais de duas duplas ligações apresentam alta densidade.

Da mesma forma pode-se constatar que, em relação ao número de cetano, a soja e o girassol possuem baixos níveis de cetano isto se deve a presença de altos graus de insaturações Karmaka; Karmaka; Mukherjee (2010). Já o biodiesel de

amendoim, rico em ésteres metílicos com longas cadeias carbônicas e ácidos saturados como Ácido behênico (C22:0) e Ácido lignocérico (C24:0) apresenta alto índice de cetano, porém valores inadequados de entupimento a frio. Sobre a estabilidade oxidativa a soja e o girassol, com concentrações significativas de ácido linoléico (C18:2) e ácido linolênico (C18:3), se degradam mais facilmente em comparação ao dendê e o coco que apresentam alta concentração de ácidos graxos saturados como o ácido palmítico (C16:0) e ácido esteárico (C18:0). A tabela 1 mostra a composição, em ácidos graxos, dos óleos de algodão, amendoim, canola, crambe, dendê, girassol e soja.

Tabela 1: Comparação da composição do teor de ácidos Graxos em diferentes matérias primas

Ácidos Graxos	Algodão ^a	Amendoim ^b	Canola ^c	Crambe ^d	Dendê ^e	Girassol ^f	Soja ^g
Ácido láurico (C-12:0)					0,2		
Ácido mirístico (C-14:0)					0,9		
Ácido palmítico (C-16:0)	13,5	11,2	4,1	1,8	43,5	8,4	11,6
Ácido esteárico (C-18:0)		4,2	1,6	0,7	4,9		3,2
Ácido oléico (C-18:1) (9)	25,3	40,3	61,8	17,2	40,4	27,0	22,8
Ácido linoléico (C18:2) (9,12)	48,3	30,8	18,5	8,7	9,5	49,5	55,6
Ácido linolênico (C18:3)(6,9,12)		0,9	10,7	5,2	0,25		6,7
Ácido araquídico (C- 20:0)		2,0			0,3		
Ácido behênico (C- 22:0)		5,1		56,2			
Ácido lignocérico (C- 24:0)		3,0		0,7			

Fonte: ^{a)} Galvão et al. (2011); ^{b)} Pinto et al. (2015); ^{c)} Harker et al. (2013); ^{d)} Machado et al. (2006); ^{e)} Hayyan et al. (2011); ^{f)} Saydut et al. (2016); ^{g)} Sousa et al. (2014).

Outro parâmetro importante a ser levado em conta quando se fala de matérias primas para biodiesel é o rendimento em óleo de determinada oleaginosa. A região,

o modo de cultivo e principalmente as distinções genéticas das espécies oleaginosas apresentam concentrações diferentes em óleos. A palma, por exemplo, contém 22% em óleo, pinhão manso 38%, coco 58-65%, babaçu 60%, mamona de 39,6-59,5%, amendoim 40-60%, girassol 40-47%, soja 18-21%, colza 34-40%, algodão 18-20%. Variando a qualidade e produtividade de biodiesel de acordo com a espécie e o local de cultivo (BERGMANN et al., 2013).

No Brasil, segundo o anuário estatístico da ANP de 2017, a soja é a matéria prima mais utilizada para a produção de biodiesel, correspondendo a 68,25% da produção total, seguida de um crescente aumento no uso da gordura animal que, em 2007 correspondia a 8,44% da produção, e em 2017 passa a ser de 16,22% adicionadas em mistura ao biodiesel de soja, e posteriormente em menor destaque outros materiais graxos, que corresponde à misturas de matérias-primas em tanque, e outras matérias primas como óleo de algodão, óleo de fritura, gordura de porco, gordura de frango, óleo de palma conforme mostra o gráfico1.

Gráfico1: Matérias primas utilizadas para a produção de biodiesel no Brasil em 2017

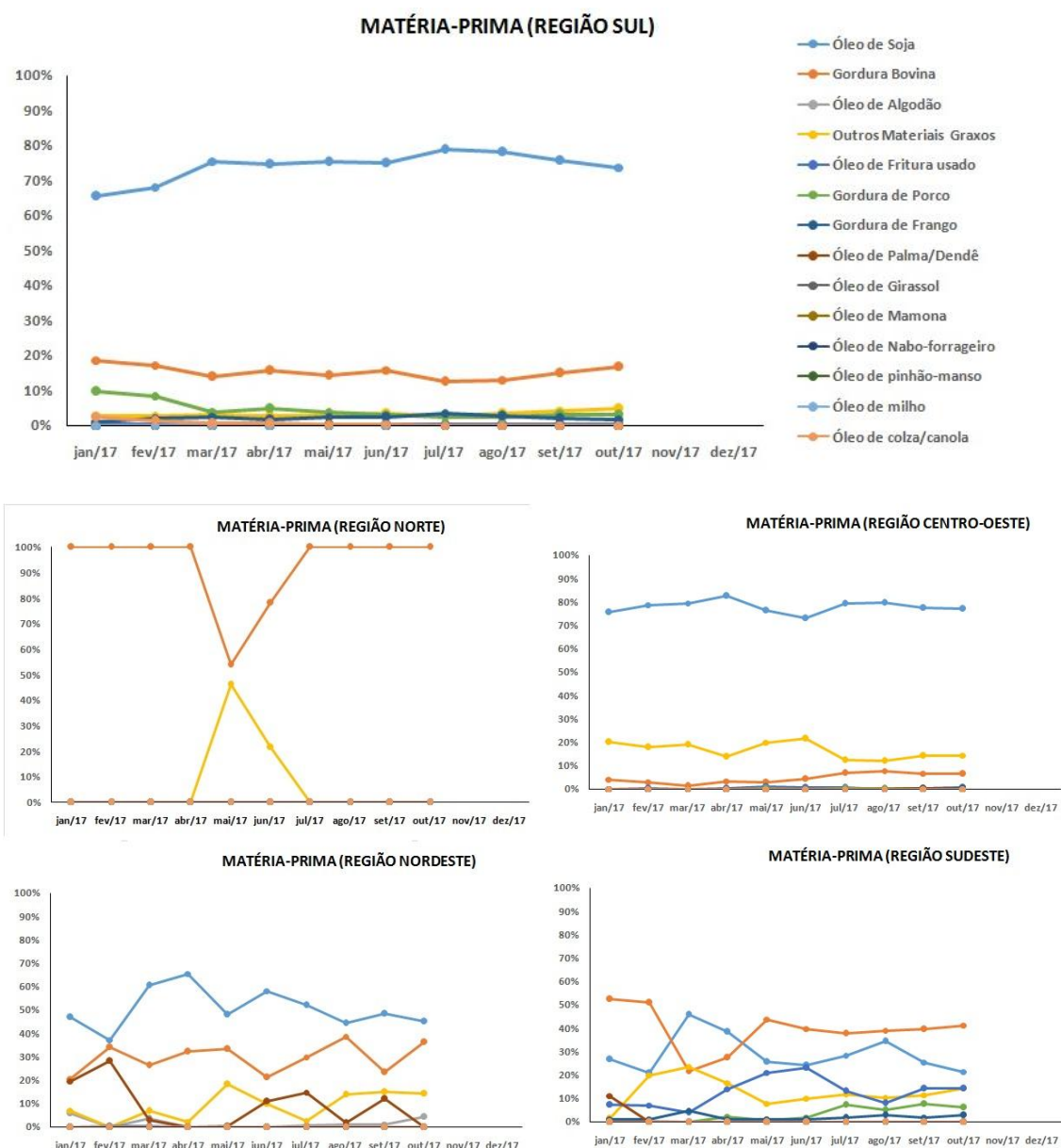


Fonte: Anuário estatístico da ANP de 2017

O gráfico 2 mostra uma análise do percentual de matérias primas processadas segundo as informações extraídas do Sistema de Movimentação por região do Brasil, de Produtos da ANP, com última atualização em 2017. Dados que indicam que na região norte tem maior produção de biodiesel a partir da gordura bovina, na região nordeste a partir da soja, gordura bovina, algodão, palma e dendê respectivamente. Já na região centro oeste, soja, gordura bovina, outros materiais

graxos, óleos residuais de fritura, gordura de porco, gordura de frango e óleo de palma respectivamente. Na região sudeste gordura bovina, soja e outros materiais graxos; e região sul com predominância da soja, seguido da gordura bovina, gordura de porco, outros materiais graxos, gordura de frango e canola, respectivamente.

Gráfico 2: Matérias primas utilizadas para a produção de biodiesel no Brasil por região



Fonte: Sistema de Movimentação de Produtos da ANP

As matérias primas para a produção de biodiesel podem ser classificadas em três grupos, óleos comestíveis e não comestíveis, gorduras e material residual ou de descarte. Matérias primas oleaginosas que armazenam maiores quantidade de óleos são preferidas na indústria de biodiesel, entretanto em contraposto a soja, uma

aleuro-oleaginosa possui baixa capacidade de armazenamento de óleo comparado as demais matéria primas, contudo, sua disponibilidade e cultivo em larga escala, por sua excelente capacidade de adaptação a classifica como a principal fonte de óleo para a produção de biodiesel (RAMOS et al., 2017).

3.3 REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO PARA A PRODUÇÃO DE BIODIESEL

A reação de transesterificação é uma reação química que transforma um éster em outro por meio da troca dos grupos alcóxidos. Óleos e gorduras constituídos por triacilglicerídeos reagem com um álcool de cadeia curta na presença de um catalisador, levando à formação de ésteres monoalquílicos e glicerol. Assim, o processo para gerar o monoéster, consiste em três etapas consecutivas, os triacilglicerídeos são primeiramente convertidos em diacilglicerídeos, que reagem formando o monoacilglicerídeos e o glicerol (CLARK et al., 2013; SHAHID; JAMAL, 2011).

Um álcool de cadeia curta, metanol ou etanol, reage com o óleo na presença de um catalisador adequado fornecendo os ésteres alquílicos, metílicos ou etílicos. Cada equivalente de triglicerídeo do óleo vegetal reage com três equivalentes de álcool produzindo três equivalentes de monoglicerídeos e um equivalente de glicerol. Como a reação é reversível, faz-se necessário um excesso de álcool para forçar o equilíbrio para o lado dos produtos e aumentar o rendimento em ésteres (MEHER; SAGAR; NAIK, 2006).

O rendimento da reação de transesterificação depende de inúmeros fatores, como o álcool e o tipo de catalisador escolhido, a temperatura e o tempo de reação, assim como da existência de ácidos graxos livres na matéria prima (SHAHID; JAMAL, 2011). Quando a taxa de conversão em ésteres alquílicos atingir 96,5% exigidos pela ANP, o produto se encontra dentro das especificações de biodiesel.

Como a reação de transesterificação sofre influência direta do catalisador utilizado, o processo varia de acordo a natureza do mesmo, podendo ser, ácido, básico ou enzimático (HAMA; KONDO, 2013) e ainda monofásico ou polifásico na mistura reacional com os reagentes.

Atualmente o método mais utilizado para a produção industrial de biodiesel é a reação de transesterificação via catalise homogênea básica, utilizando hidróxidos ou alcóxidos de sódio ou potássio como catalisadores. Este processo tem sido largamente utilizado, pois é rápido e com rendimento elevado em comparação

pode ser produzido de diversas matérias primas, além de ser um produto renovável, possui uma cadeia produtiva já consolidada no país e, não é tóxico como o metanol (VERMA; SHARMA, 2016).

3.4. NORMAS DE QUALIDADE ESTABELECIDAS PARA O BIODIESEL

A ANP regulamenta as atividades da indústria de combustíveis e biocombustíveis através de resoluções, portarias técnicas e administrativas, instruções normativas, autorizações e despachos, fundamentadas na Constituição Federal, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (Ibama), o Conselho Nacional de Meio Ambiente (Conama), o Conselho Nacional de Política Energética (CNPE), entre outros. Assim como, a qualidade é regulamentada pelo Instituto Nacional de Metrologia, qualidade e tecnologia (Inmetro), e ABNT Associação Brasileira de Normas Técnicas (GUTIÉRREZ-OPPE, 2013). A Resolução ANP Nº 45, DE 25.8.2014, aborda as obrigações quanto ao controle da qualidade a serem atendidas para a comercialização do biodiesel em todo o território nacional. Para ser comercializado o biodiesel deve possuir um Certificado de Qualidade de amostra representativa, cujos resultados deverão atender aos limites estabelecidos da especificação constante no Regulamento Técnico ANP. O regulamento técnico estabelece que as especificações para o biodiesel (tabela 2) devem ser determinadas seguindo os métodos de ensaio estabelecidos pelas ABNT, Métodos ASTM (*American Society of Testing and Materials*) e Métodos EN/ISO do *Comité Européen de Normalisation* - CEN, os quais podem ser divididos em dois grupos. Um grupo contém parâmetros gerais, utilizados para combustíveis no geral, e o outro grupo descreve especialmente da composição química e pureza dos alquil ester de ácidos graxos (MITTELBAACH, 1996).

Tabela2: Especificação do Biodiesel segundo as normas da ANP

Continua...

CARACTERÍSTICA	LIMITE	MÉTODO		
		ABNT NBR	ASTM D	EN/ISO
Aspecto	LII ⁽¹⁾	-	-	-
Massa específica a 20° C (Kg m ⁻³)	850 a 900	7148 14065	1298 4052	EN ISO 3675 EN ISO 12185
Viscosidade Cinemática a 40°C (mm ² s ⁻¹)	3,0 a 6,0	10441	445	EN ISO 3104
Teor de água, máx. (mg kg ⁻¹)	200,0	-	6304	EN ISO 12937
Contaminação Total, máx. (mg kg ⁻¹)	24	-	-	EN ISO 12662

				Conclusão.
CARACTERÍSTICA	LIMITE	MÉTODO	6371	EN 116
		ABNT NBR	ASTM D	EN/ISO
Cinzas sulfatadas, máx. (% massa)	0,020	6294	874	EN ISO 3987
Enxofre total, máx. (mg kg ⁻¹)	10	15867	5453	EN ISO 20846 EN ISO 20884
Sódio + Potássio, máx. (mg kg ⁻¹)	5	15554 15555 15553 15556	-	EN 14108 EN 14109 EN 14538
Cálcio + Magnésio, máx. (mg kg ⁻¹)	5	15553 15556	-	EN 14538
Fósforo, máx. (mg kg ⁻¹)	10	15553	4951	EN 14107 EN 16294
Corrosividade ao cobre, 3h a 50 °C, máx.	1	14359	130	EN ISO 2160
Número Cetano (4)	-	-	613 6890	EN ISO 5165
Glicerol livre, máx. (% massa)	0,02	15341 15771	6584	EN 14105 EN 14106
Glicerol total, máx. (% massa)	0,25	15344 15908	6584	EN 14105
Monoacilglicerol, máx. (% massa)	0,70	15342 15344 15908	6584	EN 14105
Diacilglicerol, máx. (% massa)	0,20	15342 15344 15908	6584	EN 14105
Triacilglicerol, máx. (% massa)	0,20	15342 15344 15908	6584	EN 14105
Metanol e/ou Etanol, máx. (% massa)	0,20	15343	-	EN 14110
Índice de Iodo (g 100g ⁻¹)	Anotar	-	-	EN 14111
Estabilidade à oxidação a 110°C, mín. (h)	8	-	-	EN 14112 EN 15751

Fonte: Regulamento técnico da ANP, RESOLUÇÃO ANP Nº 45, DE 25.8.2014.

(1) LII é Límpido e isento de impurezas

Os valores estabelecidos na tabela 2 para garantir a qualidade do biodiesel, visam fixar teores limites de contaminantes que não prejudiquem a qualidade das emissões na queima, o desempenho, a integridade do motor e a segurança no

transporte e manuseio, bem como as possíveis degradações do produto durante os processos de transporte e estocagem (LÔBO, et al., 2009).

O biodiesel possui como vantagens, além de ser de origem renovável, biodegradável e não tóxico, um elevado ponto de inflamação, que garante uma maior segurança no transporte, assim como maior octanagem em comparação ao diesel de petróleo. O que contribui na sua comercialização, a qual no Brasil é assegurada por lei, nº 13.263 de 23/03/2016 que instituiu a adição de 8% de biodiesel no diesel de petróleo a partir de 2017. Entretanto existe o receio de utilizar maiores porcentagens de biodiesel no diesel, por ser um produto que compromete a vida útil do motor em maior proporção que o diesel, quando apresenta propriedades físico químicas divergentes dos parâmetros estabelecidos.

Problemas com o biodiesel como sendo, alta viscosidade que prejudica o sistema de injeção, a não neutralização que indica a quantidade de ácidos graxos livres, a degradação e consequentemente a formação de depósitos residuais nos motores, a combustão incompleta e baixa volatilidade, afetam as propriedades do combustível e dificultam a viabilização e utilização do mesmo perante as normas vigentes (MEHER; SAGAR; NAIK, 2006).

Desta forma as normas da ANP estabelecem parâmetros de qualidade do produto, à adequação ao uso e ao meio ambiente, levando em consideração o mercado e o consumidor.

3.5. ESTABILIDADE DO BIODIESEL

Segundo Jain e Sharma (2011) a estabilidade do biodiesel pode ser dividida em três tipos, a térmica, de armazenamento e a oxidativa. A térmica se encontra relacionada aos fenômenos de temperatura, a de armazenamento às condições de estocagem e a oxidativa se encontra relacionada aos efeitos de oxidação devido à presença de luz, calor e microorganismos entre outros.

Em todas as etapas do processo produtivo do biodiesel o mesmo produto pode sofrer degradação perante a presença do oxigênio, água, luz, temperatura, íons metálicos, microorganismos, peróxidos, entre outros fatores que alteram suas propriedades físicas e químicas. O efeito desses fatores é variável com as condições do produto, como a matéria prima utilizada, períodos e locais de armazenamento e transporte (ZHOU; XIONG; LIU, 2017).

O processo degradativo do biodiesel é uma das principais desvantagens em comparação com o diesel de petróleo. Quando se inicia o processo oxidativo, por exemplo, é desencadeada uma reação em cadeia a qual resulta em compostos de cadeias pequenas, como aldeídos, cetonas, ésteres de cadeia curta. Estes, por sua vez, causam o entupimento do bico injetor e filtros de combustível, formação de precipitado em vários componentes do sistema como a câmara de combustão, o que altera propriedades como viscosidade, acidez, mudança na coloração, entre outros parâmetros indesejáveis que tornam o estudo sobre o assunto essencial dentro da cadeia de produção do produto (SALUJA; KUMAR; SHAM, 2016).

3.5.1 ESTABILIDADE NO ARMAZENAMENTO

A estabilidade no armazenamento de um combustível é a sua capacidade de resistir às alterações físicas e químicas provocadas pela sua interação com o ambiente. O produto pode sofrer influência de fatores como a exposição ao ar e / ou à luz, a temperatura e presença de impurezas como água e metais de transição, microorganismos o que pode acelerar a degradação do mesmo. (YANG et al., 2013).

A instabilidade durante o armazenamento pode se dar por diferentes mecanismos como oxidação ou auto-oxidação por contato com o ar ambiente, instabilidade térmica ou decomposição oxidativa térmica do excesso de calor, hidrólise do biocombustível por contato com água ou umidade, contaminação microbiana da migração de partículas de pó ou gotas de água contendo bactérias ou fungos e, pela presença de metais e outros elementos (DUNN, 2008).

O principal agravante do armazenamento é a susceptibilidade à oxidação, que está relacionada com a composição química do biodiesel, que varia conforme a matérias-prima por comprimentos de cadeia, níveis de insaturação e conformação. E sob influência do ar e/ ou luz a oxidação pode resultar na formação de ácidos corrosivos de cadeia curta e outros compostos que formam depósitos que podem causar o aumento do desgaste dos tanques de armazenagem, bombas de combustível, e outras peças do motor (FOCKE, et al., 2012).

A presença de água, metanol, cetona, aço, liga de alumínio e chumbo, metais de transição: ferro, níquel, manganês, cobalto e cobre e produtos de degradação, pode catalisar a formação de radicais em óleos, enquanto outras impurezas podem catalisar as vias de degradação do óleo uma vez formados os radicais. Já o teor de

água no biodiesel irá aumentar a degradação do biodiesel devido à hidrólise, mas seu efeito é muito menor do que os dos fatores acima (SARIN et al., 2009).

Os produtos da degradação formados sob ação das condições adversas de armazenamento expostas, podem causar alteração na coloração, diminuição do período de indução, aumento na viscosidade, entre outras características que modificam a constituição química do biodiesel e o tornam comercialmente desfavorável (CHRISTENSEN; MCCORMICK, 2014).

3.5.2 ESTABILIDADE TÉRMICA

Estabilidade térmica confere resistência ao biodiesel à altas temperaturas (>250 °C). Diversos estudos apontam ao fato de que, quando o biodiesel entra em contato com o motor, desencadeia-se o aumento da massa molar e da viscosidade por meio de reações de polimerização (JOHNSON; KUMMEROW, 1957).

Quando o biodiesel atinge altas temperaturas, a estrutura olefinica poli-insaturada começa a isomerizar-se para estrutura conjugada estável. Uma vez iniciada esta isomerização, o grupo dieno conjugado de uma cadeia de ácido graxo (conjugado Diolefina) pode reagir com um outro grupo oleofínico de outra cadeia de ácido graxo (Grupo mono-olefina) para formar um grupo ciclohexano. Essa reação, conhecida como Diels Alder (Figura 2) tem como produto a formação de dímeros, mas pode acabar formando trimeros, quando um dímero reage com um dieno conjugado de outra molécula (JAIN; SHARMA, 2011).

Figura 2: Esquema da reação de Diels Alder

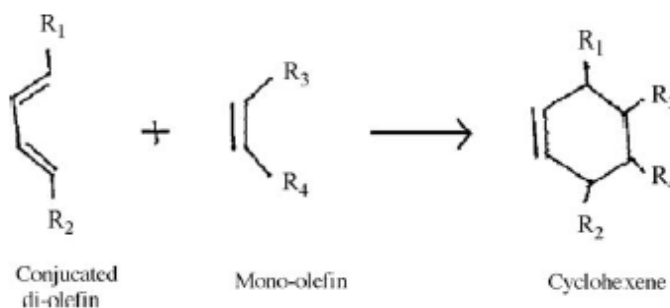


Fig. 1. Diels Alder reaction.

Fonte: (JAIN; SHARMA, 2011).

São possíveis dois tipos de isomerização: (a) a isomerização posicional de ligações insaturadas que leva à formação de configuração conjugada bis-alílica; (b)

isomerização conformacional *cis* / *trans*. Uma única insaturação *trans* é mais estável do que uma insaturação *cis*, porém a insaturação *trans* conjugada é mais sensível à oxidação do que a insaturação *cis* vizinha (RIZWANUL et al., 2014).

De maneira geral, a polimerização térmica resulta na redução rápida da insaturação da cadeia de ácido graxos, pois os três grupos olefínicos se combinam para formar um único grupo (SALUJA; KUMAR; SHAM, 2016). Esta técnica pode dar-se tanto por reações intramoleculares como por intermoleculares envolvendo as moléculas de glicerídeos. O fechamento do anel provavelmente ocorre entre grupos de ácidos graxos de dois glicéridos diferentes, ou da mesma molécula, ocasionando o aumento da viscosidade (WEXLER, 1964)

3.5.3 ESTABILIDADE À OXIDAÇÃO

A estabilidade oxidativa esta relacionada com a suceptibilidade do produto à ação do oxigênio presente na atmosfera. O agente precursor da oxidação geralmente é um radical livre, e pode interferir na estabilidade por vários mecanismos diferentes como na reação espontânea do oxigênio com biodiesel, a auto-oxidação. A oxidação catalisada por enzimas e a oxidação catalisada pela exposição à luz, um processo chamado "foto-oxidação" (PULLEN; SAEED, 2012).

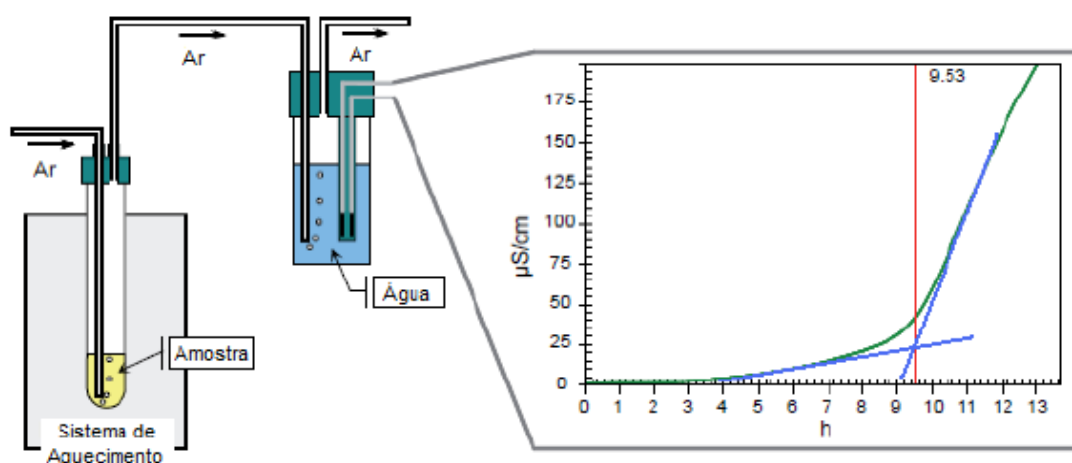
O processo de oxidação é uma reação em cadeia auto-sustentável que prossegue lentamente no início, no qual a concentração de hidroperóxido (ROOH) é baixa e, de repente, alcança o ponto em que o grau de oxidação aumenta abruptamente, esse tempo é chamado de "período de indução" (PI) expresso em horas (TAN et al., 2002). Este período determina a susceptibilidade relativa à oxidação do TAG ou éster alquílico, e de acordo com as condições sob o qual é stressado (temperatura e exposição ao oxigênio). Uma vez que o PI tenha passado, o nível de ROOH aumenta rapidamente, sinalizando o início da oxidação rápida (PULLEN; SAEED, 2012 ; RIZWANUL et al., 2014)

O método Rancimat é o Método oficial de determinação da estabilidade oxidativa dos óleos e Gorduras pela *American Oil Chemists 'Society (AOCS)*. Experimentalmente a amostra é submetida ao teste em uma temperatura constante pré-estabelecida, a oxidação da amostra é induzida com a adição de ar em taxa constante. A mistura ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES) presentes na amostra são convertidos em produto da oxidação primária, hidroperóxidos, que quando completamente decompostos resultam nos produtos de oxidação

secundária. Como resultado do processo de oxidação, ocorre uma liberação de gases juntamente com o ar, que é então direcionado para um recipiente contendo água deionizada. Este recipiente possui um condutímetro, o qual afere a condutividade da amostra versos o tempo (YAAKOB et al., 2014).

A medição contínua dessa condutividade institui uma curva de oxidação, na qual o ponto de inflexão dessa curva é conhecido como período de indução, que vem a ser tempo até o aumento súbito na condutividade. Após o período de indução, a taxa de oxidação, índice de peróxido, absorção de oxigênio e formação de compostos voláteis, todos rapidamente aumentaram (CARVALHO et al., 2013). Quanto maior for o período de indução, maior será a estabilidade a oxidação (ZHOU; XIONG; LIU, 2017).

Figura 3: Representação esquemática do funcionamento do Rancimat



Fonte: Metrohm Information Issue (2007)

3.6 MECANISMOS DE OXIDAÇÃO

3.6.1 Auto- oxidação

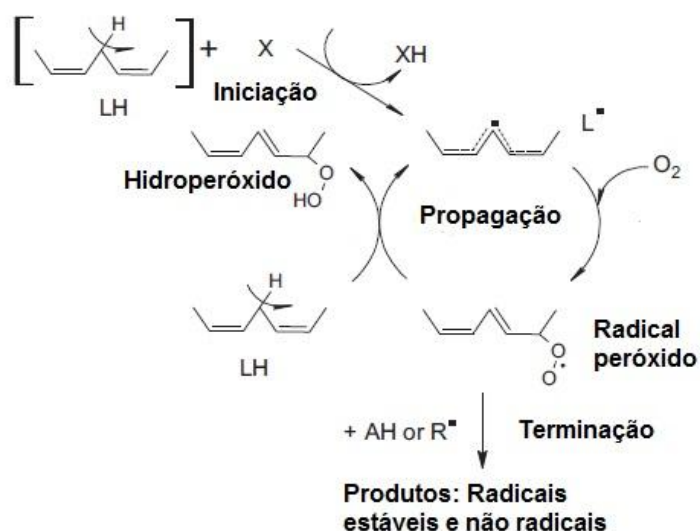
A reação espontânea do oxigênio atmosférico com os lipídios, conhecida como auto-oxidação, é o processo mais comum que leva à deterioração oxidativa. De acordo com a teoria atual da reação em cadeia da peroxidação, a auto-oxidação do biodiesel, ocorre por um conjunto de reações categorizadas como iniciação, propagação e terminação. Reações que podem ser sequenciais ou sobrepostas

(DEL RÉ; JORGE, 2012; KUMAR, 2017; JAIN; SHARMA, 2011; RAMALHO; JORGE 2006; RIZWANUL; WAKIL et al. 2014; YAAKOB et. al. 2014; ZULETA, et al. 2012).

A etapa de iniciação é caracterizada pela susceptibilidade do ácido graxo perder um hidrogênio nos sítios alílicos e bis-alílicos pela ação de um precursor, como exemplo o oxigênio molecular. Os carbonos do grupo metileno entre os carbonos olefínicos são os locais do primeiro ataque devido à ligação insaturada enfraquecer a ligação alifática (C-H) do átomo de carbono adjacente à ligação dupla, uma vez que a estabilização da ligação π da dupla se dá por ressonância, facilitando a remoção do hidrogênio do carbono alílico e formando um radical alílico estável, que proporciona o início de uma reação em cadeia com o radical livre primário formado (SWRI, 2005).

Na etapa de propagação primeiramente o radical alílico formado reage com o oxigênio molecular para produzir radicais peroxi, posteriormente o radical peroxi abstrai outro hidrogênio alílico, produzindo um hidroperóxido alílico e um novo radical alílico. Este radical alílico reage novamente com oxigênio, dando origem a uma reação em cadeia que se estende enquanto houver lipídios insaturados disponíveis. A extração de hidrogênio pelos radicais livres geralmente ocorre nos sítios alílicos pois a energia de ligação entre o carbono e o hidrogênio são baixas (ZULETA, et al., 2012). O mecanismo da oxidação pode ser entendido por meio da figura 4.

Figura 4: Esquema de um mecanismo de peroxidação em um hidrogênio bis-alílico



A oxidação, de acordo com este mecanismo indicada como auto-oxidação ou perodidação, se inicia com uma quebra homolítica do hidrogênio bis-alílico através de um componente externo nucleofílico (X), formando-se, então, um radical de ácido graxo ($L^{\cdot}$). X pode ser, tanto um outro radical presente no meio, chamado radical livre (RL), quanto qualquer outra espécie reativa o suficiente para tal fim.

A próxima etapa é a propagação, em que este radical formado reage com oxigênio presente no meio formando um radical peroxil ($LOO^{\cdot}$). Este tende a reagir com outro ácido graxo, no mesmo hidrogênio, formando um equivalente $L^{\cdot}$ e um hidroperóxido ($LOOH$), dando continuidade a reação.

Esta espécie $LOOH$ é a responsável pela formação dos subprodutos da oxidação, tanto compostos orgânicos voláteis quanto polímeros de ácidos graxos, causando mudanças nas propriedades do material (YANG et al., 2017).

A última etapa da reação radicalar é a terminação, um caminho alternativo em que o LOO invés de reagir com outro equivalente de ácido graxo, reage com outro componente resultando em um produto não-radicalar ou de certa estabilidade. Dentre os possíveis compostos para tal reação, está outro radical ($R^{\cdot}$) ou um antioxidante (AH) (RIZWANUL et al., 2014).

Comumente, a terminação ocorrerá com o auxílio de um AH, resultando assim em um hidroperóxido e um radical estável ($A^{\cdot}$). A probabilidade de que a terminação ocorra com a interação entre dois radicais é pequena, proporcional a concentração de $R^{\cdot}$ no meio (RIZWANUL et al., 2014).

Por tanto, os fatores que promovem a oxidação do biodiesel são: o número de instaurações presentes na cadeia de ácidos graxos constituintes, a posição das ligações duplas C- C e o número de sítios alílicos e bi- alílicos. O biodiesel por ser uma mistura de ésteres monoalquílicos de ácidos graxos com composições variáveis de cadeias de compostos saturados e insaturados de acordo com a matéria prima, se torna mais suscetível a oxidação quanto maior for conteúdo de cadeias insaturadas, pois maior será o número de sítios alílicos reativos com o O_2 (KUMAR, 2017).

3.6.2 Foto-oxidação

A foto-oxidação é um mecanismo no qual a radiação ultravioleta inicia o processo de transferência de energia na presença de foto-sensibilizadores (clorofila, mioglobina, riboflavina e outros), os quais absorvem a energia luminosa de

comprimento de onda na faixa do visível e a transferem para o oxigênio tripleto ($^3\text{O}_2$), gerando o estado singleto ($^1\text{O}_2$) (Ferrari; Souza, 2009). A luz possibilita que o oxigênio molecular seja excitado para seu estado singleto eletrofilico e adição direta do oxigênio singleto ($^1\text{O}_2$) aos ácidos graxos insaturados (YAAKOB et al., 2014). O oxigênio singleto, como intermediário reativo, reage diretamente com as ligações duplas presentes no óleo produzindo hidroperóxidos conjugados e não conjugados diferentes dos que se observam na ausência de luz e de sensibilizadores, ocasionando o deslocamento da insaturação e mudança na configuração e que por degradação posterior originam aldeídos, álcoois e hidrocarbonetos (RAMALHO; JORGE, 2006; SALUJA; KUMAR; SHAM, 2016).

3.6.3 Oxidação enzimática

A oxidação por via enzimática ocorre quando se faz presente no meio as enzimas lipoxigenases, que catalisam a adição do oxigênio molecular aos ácidos graxos poli-insaturados, para formar peróxidos e hidroperóxidos com duplas ligações conjugadas. Estes produtos podem envolver-se levando a formação de compostos estáveis, acelerando diferentes processos de degradação do biodiesel (RAMALHO; JORGE, 2006).

3.7 ANTIOXIDANTES

Com o intuito de diminuir ou retardar a oxidação do biodiesel, comumente e de maneira eficaz a indústria de óleo vegetal e biodiesel utiliza como tratamento substâncias conhecidas como antioxidantes (YANG et al., 2017). Antioxidantes segundo a definição encontrada em Sies; Helmut; e Stahl (1995) é qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato.

Os antioxidantes podem ser classificados de acordo com seu mecanismo de ação: primários, secundários, sinergistas, removedores de oxigênio, biológicos, agentes quelantes e antioxidantes mistos (GALVAN et al., 2014). Ou ainda categorizados como naturais ou sintéticos (SALUJA; KUMAR; SHAM, 2016). Segundo Araújo (2004), o efeito do antioxidante consiste na inativação de radicais livres, na complexação de íons metálicos ou na redução de hidroperóxidos para produtos incapazes de formar radicais livres e produtos de decomposição.

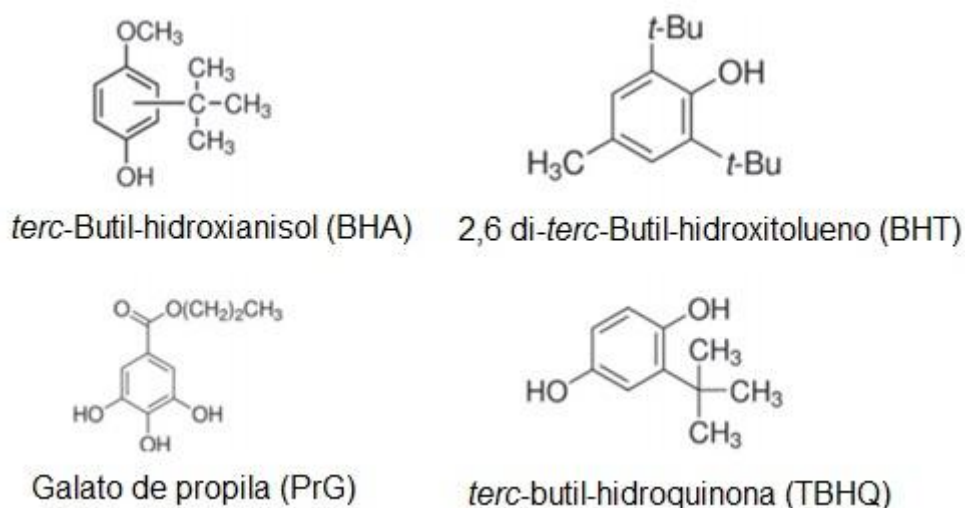
Os antioxidantes primários reagem interrompendo a propagação da reação em cadeia do processo de auto-oxidação, mediante a doação de prótons de grupos OH ou NH ativos, impedindo a formação ou disseminação de radicais livres. Compostos fenólicos substituídos, aminas aromáticas secundárias e os tiofenóis são os antioxidantes primários mais utilizados, como os antioxidantes naturais tocoferóis e flavonoides (VARATHARAJAN; PUSHPARANI, 2017). Também chamados de *chain breaking*, reagem com os radicais lipídicos de alta energia de modo a convertê-los em produtos termodinamicamente mais estáveis, aumentando a estabilidade oxidativa (RIZWANUL; WAKIL et al., 2014). Os secundários agem retardando a taxa de iniciação da reação em cadeia, por meio da decomposição de hidroperóxidos do meio. Esta interação converte os hidroperóxidos em alcoóis (RASHED, et al., 2015). De acordo com Ramalho; Jorge (2006), os removedores de oxigênio são compostos que atuam capturando o oxigênio presente no meio, por meio de reações químicas diminui a quantidade de oxigênio disponível para atuarem como propagadores da auto-oxidação. Os antioxidantes biológicos incluem várias enzimas, como glucose oxidase, superóxido dismutase e catalases, que podem, entre outras funções, remover oxigênio ou compostos altamente reativos do meio. E os agentes quelantes/seqüestrantes, por possuírem um par de elétrons não compartilhado na sua estrutura molecular promovem a ação de complexação com íons metálicos, principalmente cobre e ferro, que catalisam a oxidação lipídica.

O sinergismo entre antioxidantes é o uso combinado de dois ou mais antioxidantes para produzir um efeito maior que a ação de qualquer um deles sozinhos. Pode haver sinergismo entre combinações de antioxidantes primários (homosinergismo) ou entre um antioxidante primário e um secundário (hetero sinergismo). Na combinação de um antioxidantes primários, um deles pode agir sobre os radicais peróxidos, enquanto o outro doa hidrogênios e ajuda na regeneração do primeiro antioxidante. O sinergismo não só melhora estabilidade, mas também reduz a quantidade de antioxidantes necessários e o custo dos aditivos (VARATHARAJAN; PUSHPARANI, 2017).

Os antioxidantes sintéticos são principalmente compostos fenólicos, e agem como antioxidantes primários. Na indústria de biodiesel os antioxidantes sintéticos são escolhidos mesmo sendo de origem fóssil, devido à eficiência apresentada na estabilidade oxidativa e de armazenamento (DUNN, 2008). Entre os principais antioxidantes utilizados na indústria estão; 2,6 di-*terc*-Butil-hidroxitolueno (BHT),

tert-Butil-hidroxianisol (BHA), *tert*-butil-hidroquinona (TBHQ) e galato de propila (PrG), com suas respectivas formulas quimicas na figura 5 (GALVAN et al., 2014; SUPRIYONO et al., 2015; YANG et al., 2017).

Figura 5: Antioxidantes sintéticos



Fonte: (YANG et al., 2017)

Em contra partida, em estudos, antioxidantes naturais são considerados vantajosos por serem biodegradáveis e não tóxicos. Todavia, os antioxidantes naturais ainda não são utilizados industrialmente (FERNANDES et al., 2015).

Ao que se refere aos antioxidantes naturais, sua atividade é influenciada por diversos fatores, como a concentração de fotoquímicos antioxidantes na planta, que dependem das condições endofoclimáticas do cultivo, do solvente e a técnica de extração empregada. Das condições do cultivo, a concentração de metabólicos é influenciada pela sazonalidade, a temperatura, a disponibilidade hídrica, disponibilidade de nutrientes, radiação ultravioleta, poluição atmosférica, altitude, indução por estímulos mecânicos ou ataque de patógenos (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Os vegetais de modo geral, apresentam dois tipos de metabólitos, os primários utilizados para a sobrevivência do vegetal em termos de necessidades vitais, como nos processos de fotossíntese, respiração e assimilação de nutrientes, e os secundários relacionados principalmente com estratégias de defesa das plantas, como para evitar a herbívoros ou parasitismo. E em estudos, percebeu-se que muitos metabólitos secundários podem ser utilizados como fungicidas,

inseticidas, assim como antioxidantes. E estes são distribuídos em três grupos de acordo com as principais rotas biossintética, terpenos, compostos fenólicos e compostos contendo nitrogênio (LORDÊLO et al., 2010).

Os terpenos agem como antioxidantes de lipídios agindo sobre os radicais livres, oxigênios reativos, peróxidos e radicais superóxidos, e entre os terpenos mais estudados estão os carotenóides relacionados com a pigmentação de diversos vegetais e os limonoides encontrados na casca de frutas cítricas (CHANSQUIBOL et al., 2003). Os terpenos podem ser considerados como co produtos da condensação de duas ou mais moléculas de isopreno, resultando em monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, tetraterpenos, politerpenos (KLOCK et al., 2005).

Os compostos fenólicos são amplamente distribuídos na natureza e já foram detectados em diversos vegetais. Estes compostos agem como antioxidantes pela sua habilidade de doar hidrogênios ácidos ou elétrons (SILVA, et al., 2010).

Os flavonóides fazem parte de diversos tipos de compostos orgânicos, como flavonóis, flavonas, flavanonas, catequinas, antocianinas, isoflavonas e chalconas. Apresentam na sua estrutura basicamente dois anéis benzênicos ligados a um anel pirânico, podendo com essa estrutura neutralizar radicais livres e quelar íons metálicos, diminuindo assim a reação de oxidação (MEDEIROS, 2013).

Entre os compostos contendo nitrogênio, os alcalóides são os mais freqüentes, estes são definidos como sendo bases orgânicas nitrogenadas que podem ser classificadas de acordo com o aminoácido precursor. Os alcalóides reagem doando do par de elétrons, não ligantes, do nitrogênio, desta maneira podem interagir através de reações com os radicais livres que se formam nas reações de oxidação do biodiesel (DEWICK, 2001).

Muitas espécies vegetais possuem antioxidantes naturais, como tocoferóis, tocotrienóis, polifenóis, clorofilas, ascorbatos, lignina e carotenóides que exercem um papel protetor essencial na oxidação de ácidos graxos. Compostos fenólicos baseados em plantas, como tocoferóis, carotenóides, licopeno, zeaxantina, cantaxantina, astaxantina, ácido gálico, ácido caféico, vanilina, ácido sinápico, ácido ferúlico, ácido protocatequico, ácido p-coumarico, eugenol, sesamol, ácido vanílico, ácido cinâmico e resveratrol tem propriedades antioxidantes que já são produzidas comercialmente em um grande escala (VARATHARAJAN; PUSHPARANI, 2017).

Existe uma diversidade de matérias primas com potencial antioxidante provenientes de plantas *in natura*, processadas ou seus resíduos agroindustriais. Frutas, tubérculos, cascas, sementes entre outros componentes podem apresentar potencial antioxidante (De Oliveira, et. al., 2009). Com a forte tendência em substituir os compostos sintéticos - visto que estes têm demonstrado apresentarem certa toxicidade (RAMALHO; JORGE, 2006), diversos estudos de compostos naturais se destacam, alguns exemplos na tabela 3.

Tabela 3: Períodos de indução de biodiesel de soja com antioxidantes naturais na concentração de 1000 ppm, em Rancimat a 110°C

Continua...		
Antioxidante	Concentração (ppm)	Período de indução(P.I) (h)
Curcumina ^a	0	4,97
	500	6,35
	1000	8,03
	1500	9,11
β-caroteno ^a	500	4,65
	1000	4,5
	1500	4,25
Extrato clorofôrmico de alecrim ^b	0	2,02
	2000	4,82
	2500	5,18
	3000	5,34
Extrato etanolico de alecrim ^b	2000	7,06
	2500	7,61
	3000	8,15
Extrato etanolico de Alecrim ^c	8000	9,40
Extrato etanólico de Orégano ^c	8000	9,20
Extrato etanolico de Manjeriçãõ ^c	8000	8,02
Extrato Etanólico de <i>Moringa oleifera</i> ^d	0	6h
	100	10,3
	500	18,2
	1000	21,2
Ácido Caféico ^e	0	1,72
	1000	12
	1500	12,5
	2000	14

Antioxidante	Concentração (ppm)	Conclusão.	
		Período de indução(P.I) (h)	de
Gossypol ^f	-	5,5	
	250	7,2	
	500	8,5	
Extrato de cascas de castanha de caju ^g	0	5,66	
	1000	5,52	
	5000	7,36	
	10000	8,53	
pólem (saburá) de abelhas Jataí (<i>Tetragonista angustula</i>). ^h Candeia ^h	0	2,56	
	1000	11,28	
	5000	12,3h	
Extrato de Hortelã ^h	1000	2,7	
	5000	3,90	
Extrato de alecrim ^h	1000	1,94	
	5000	2,25	
Extrato de erva mate ^h	1000	1,38	
	5000	2,16	
Cevada macerada ⁱ	0	3,1	
	Extração de 11g. L ⁻¹	5,8h	

Fonte: ^{a)} (SOUSA et al., 2014); ^{b)} (MEDEIROS et al., 2013); ^{c)} (SPACINO et al., 2016) Idem em (Buosi et al., 2016); ^{d)} (FERNANDES et al., 2015); ^{e)} (SANTOS et al., 2011); ^{f)} (MOSER, 2012); ^{g)} (BASTOS; TUBINO, 2017); ^{h)} (BR 10 2013 009606-7 A2); ⁱ⁾ (BR 102016004639-4 A2).

A maioria dos antioxidantes elencados na tabela 3, contém na sua composição compostos fenólicos, e isto vem ao encontro com a literatura, que enfatiza uso dos mesmos com destacando os tocoferóis (α , δ e γ tocoferol) (SUPRIYONO et al., 2015). Em exemplo da tabela 3:

-A curcumina - [1,7-bis-(hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona] ou diferuloilmetano, é composto di-fenólico com dois anéis metoxi-fenóis,

simetricamente ligados em conjugação através da porção β -di-cetona (TOLEDO, 2013).

-O extrato de alecrim tem predominância de compostos fenólicos, incluindo ácido rosmarínico, ácido carnosol e ácido carnósico, ácido caféico, rosmanol, catequina, carnosaldeído (MEDEIROS et al. 2013).

-O extrato de orégano possui *p*-cimeno, derivados fenólicos carvacrol e timol, flavonoides como a apigenina, naringenina, luteolina, pinocembrina, assim como agliconas, alcaloides alifáticos, compostos terpénicos e derivados do fenilpropano (LOZANO et al. 2014).

-O manjerição é constituído por polifenóis, flavonóides, ácido gálico, ácido clorogênico, ácido cafeico, rutina, quercetina, ácido rosmarínico, kaempferol (FISCHER et al, 2013).

-A *Moringa oleifera* também tem predominância de compostos fenólicos, com polifenóis totais, quercetina, campferol e em menor quantidade o carotenoide β caroteno (LAKO et al. 2007).

-O Gossypol é um aldeído polifenólico (MOSER, 2012). Incluindo o extrato proveniente das cascas de castanha de caju, com predominancia de ácido anacardico, possuindo tambem cardol, cardanol e 2-methylcardos (BASTOS; TUBINO, 2017).

-O pólen saburá, constituído por polifenóis, tocoferóis e flavonóides, ((PRIMIERY; OLIVEIRA, 2015) (BR 10 2013 009606-7 A2)).

- Candeia composta por flavonóides e cumarinas (SOARES; FABRI, 2011).

-E cevada com compostos fenólicos como ácido ferúlico e o ácido fenólico (MONTANUCI, 2014).

Entre os compostos fenólicos destacam-se os flavonóides, os ácidos fenólicos e o tocoferol, que podem atuar como agentes redutores, sequestradores de radicais livres, quelantes de metais ou desativadores de oxigênio singlete (NILO, 2015).

Representando dos carotenóides o β -caroteno possui nove duplas ligações conjugada e cadeia cíclica nas extremidades e são capazes de sequestrar espécies reativas de oxigênio, como o radical peroxil e o oxigênio singleto (DE MORAIS, 2006). E outros grupos como os Terpenos, mentol, α -pineno e 1,8-cineol encontrados no extrato de hortelã (NILO, 2015), e alcalóides, como a cafeína, teofilina e teobromina, assim como polifenóis presentes na erva mate. (CANTERLE, 2005).

O uso de antioxidantes no biodiesel ainda é requerido, pois na maioria das vezes, a matéria prima escolhida não comporta características que garantem as propriedades requeridas pela ANP relacionadas com a estabilidade oxidativa. Sendo assim, busca-se um antioxidante com boa solubilidade no biodiesel, efetivo em baixas concentrações, baixa ou nula toxicidade, com baixa entalpia de dissociação, com peso molecular adequado, que não precipite e contenha um número expressivo de hidrogênios dissociáveis, considerando que antioxidantes com maior quantidade de hidroxilas são mais efetivos, e ainda que em mistura com outros antioxidantes apresentem efeito sinérgico (VARATHARAJAN; PUSHPARANI, 2017).

3.7.1 *Tabernaemontana catharinensis*

Tabernaemontana catharinensis (figura 6), anteriormente classificada como *Peschiera fuchsiaefolia*, pertencente à família Apocynaceae (DA SILVA BRUM et al., 2016). Popularmente conhecida como cobrina, jasmim cata vento, leiteira de dois irmãos, tem ocorrência na Argentina, Paraguai, Uruguai e no sul do Brasil (BOLIGON et al., 2013).

Possui hábito arbóreo atingindo de 3-10 metros de altura, caules com secreção leitosa e glabrescente com o passar do tempo, folhas membranosas e estreitamente elípticas e ovolado-elípticas, inflorescências geralmente com muitas flores brancas eretas, terminais ou axilares e frutos foliculares e carnudos, muricadas externamente (MORALES, 2010).

Figura 6: *Tabernaemontana catharinensis*



Fonte: Acervo Flora digital do Rio Grande do Sul

A composição química dos ramos e frutos de *Tabernaemontana catharinensis* foi estudada por Piana et al. (2014), indicando altas concentrações de

polifenóis, flavonoides, alcaloides, taninos condensados, rutina, um glicósido de quercetina e ácido clorogênico, ambos reconhecidos como antioxidantes ativos, e o ácido cafeico que também contribui com essa capacidade.

O potencial antioxidante da espécie em questão foi apresentado em um estudo *in vitro* que objetivava subsidiar aplicações do extrato na prevenção ou supressão de várias doenças relacionadas com o estresse oxidativo de tecidos ou membranas biológicas (BOLIGON et al., 2013).

A utilização do extrato vegetal de cobraína como aditivo antioxidante, contempla as vantagens de ser ecologicamente correto, não tóxico, biodegradável, sustentável e renovável.

3.8 POLIFENOIS TOTAIS DO EXTRATO VEGETAL DE COBRINA

A presença de polifenóis em extratos vegetais é um indicativo da atividade antioxidante do mesmo. Os polifenóis constituem um grupo heterogêneo, compostos que englobam substâncias biologicamente ativas de várias classes, como resveratrol, quercetina, miricetina, catequinas e antocianinas e diversas propriedades incluindo a antioxidante (TROIAN; VICENZI; ALVES, 2016). A determinação dos compostos fenólicos totais, quando baseada no potencial de oxirredução, pode ser feita mediante análises pelos métodos de Folin-Denis, Folin-Ciocalteu, Azul da Prússia e Redução do Cloreto Férrico (AGOSTINI-COSTA, et al., 1999). O método do azul da Prússia foi escolhido para determinar a quantidade de fenólicos do extrato vegetal de *Tabernaemontana catharinensis*, é um método preciso, barato, rápido e com reprodutibilidade.

Neste método por meio de uma reação de complexação metálica em meio ácido, ocorre a redução de Fe^{3+} para Fe^{2+} através do hexacianoferrato conhecido como azul da prússia $\text{Fe}^4 [\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$, ocorre uma reação de oxirredução entre os compostos fenólicos e íons metálicos, e com a redução pelos grupos hidroxi-fenólicos (Fe^{3+} para Fe^{2+}), formam-se os complexos com o ferrocianeto, produzindo pigmentos de coloração azul. Este complexo metálico é mensurado utilizando leitor de microplacas com leituras de absorvância em $\lambda = 725 \text{ nm}$. Os resultados são expressos por meio de uma curva de calibração padrão, a qual geralmente utiliza-se ácido gálico (MARGRAF et al., 2015; SILVA, et al., 2007).

3.9 ANÁLISE TÉRMICA

Análise térmica segundo Mackenzie (p.389, 1957) e a Confederação Internacional de Análise Térmica e Calorimetria (ICTAC) se define como: “Um grupo de técnicas nas quais uma propriedade física de uma substância e/ou seus produtos de reação é medida como função da temperatura, enquanto a substância é submetida a um programa controlado de temperatura”. Ionashiro (2004) complementa que estas técnicas para serem consideradas termo analíticas devem medir uma propriedade física, direta ou indiretamente em função da temperatura sob um programa controlado.

As técnicas termo analíticas mais comuns detectam ou mensuram com o aquecimento de uma amostra mudanças sobre sua massa, sua energia, sua dimensão e na natureza dos voláteis envolvidos, e são nomeadas como Termogravimetria (TG), Derivada da Termogravimetria (DTG), Análise térmica diferencial (DTA), Calorimetria diferencial exploratória (DSC), entre outras. (MACKENZE,1957).

A termogravimetria (TG) mensura a variação da massa da amostra (perda ou ganho) em função da temperatura e/ou tempo, enquanto a amostra é submetida a uma programação controlada de temperatura. E a DTG, um conjunto de cálculos matemáticos nos quais a derivada da variação de massa em relação ao tempo é registrada em função da temperatura ou tempo, ou seja, é a derivada primeira da TG (DENARI; CAVALEIRO, 2012).

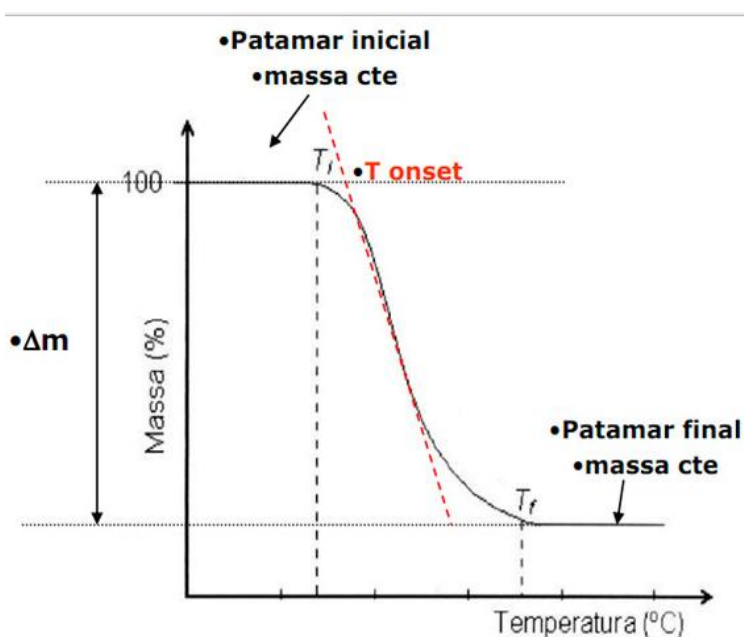
As medidas de TG são realizadas em um equipamento próprio que possui uma termobalança, que vem a ser uma combinação de uma microbalança eletrônica, com um Forno, e um programador linear de temperatura. A amostra é condicionada em um cadinho e a mudança da massa permite a integração de uma curva de TG, que fornece informações sobre a estabilidade térmica da amostra, dos produtos intermediários e do resíduo formado (IONASHIRO, 2004).

Para uma análise correta, alguns fatores que podem influenciar no aspecto das curvas TG devem ser considerados, como razão de aquecimento do forno, atmosfera do forno, geometria do suporte de amostras e do forno, e fatores ligados às características da amostra, como o tamanho de partículas quantidade de amostra, solubilidade dos gases liberados na própria amostra, calor de reação, compactação da amostra, natureza da amostra, condutividade térmica da amostra,

sendo de extrema importância, a escolha do porta amostra adequado e inerte a amostra assim como do gás de arraste (SILVA; PAOLA; MATOS, 2007)

A figura 7 exemplifica uma curva padrão de TG, na qual T_i (Temperatura inicial) é a menor temperatura em que pode ser detectado o início da variação de massa para um determinado conjunto de condições experimentais e T_f (Temperatura final) é a menor temperatura indicando que o processo responsável pela variação de massa foi concluído.

Figura 7 curva padrão de TG



Fonte: Análises térmicas.com.br

3.10 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

A espectroscopia estuda a interação da radiação eletromagnética com a matéria. Quase todos os compostos que tenham ligações covalentes absorvem radiação eletromagnética na região do infravermelho do espectro eletromagnético. A região do espectro eletromagnético correspondente ao infravermelho se estende de aproximadamente 0,75 μm até quase 1mm, mas o segmento mais frequentemente utilizado em análises está situado entre 2,5 e 25 μm (4000 a 400 cm^{-1}), conhecido como região do infravermelho médio. A região de mais baixa frequência (600 a 200 cm^{-1}) é conhecida como infravermelho longínquo e a região de mais alta frequência (4000 cm^{-1} até a região do visível) como infravermelho próximo ou região de sobretons. Quando a radiação é absorvida por uma molécula, esta se converte

em energia de vibração molecular, as vibrações moleculares podem ser classificadas em deformações axiais e deformações angulares e origina bandas de absorção no espectro obtido, ou seja, as transições vibracionais de átomos ou moléculas com absorção situadas na região do infravermelho (PAVIA et al.,2010).

A espectroscopia de infravermelho é uma técnica analítica não destrutiva que permite a determinação rápida, direta e segura de diversas propriedades, sem pré-tratamento da amostra. As intensidades das bandas podem ser expressas como transmitância ou absorbância, a transmitância é a razão entre a energia radiante transmitida por uma amostra e a energia radiante que nela incide. A absorbância é o logaritmo decimal do inverso da transmitância, isto é, $A = \log_{10} (1/T)$. A técnica de espectroscopia de IV com transformada de Fourier pode ser utilizada para caracterizar o biodiesel, por apresentar bandas características no espectro. As posições das bandas no espectro de infravermelho são apresentadas em número de onda ou em comprimento de onda as principais bandas estão em: 1750 cm^{-1} referente ao estiramento C-O da carbonila do éster, na região do espectro entre 1300 cm^{-1} a 800 cm^{-1} que podem ser encontradas bandas referentes à deformação assimétrica da ligação C-O presente no biodiesel e algumas que se sobrepõe as do óleo. Bandas em 1200 cm^{-1} referentes à deformação axial da ligação C-C (=O)-O do éster, enquanto bandas em torno de 1183 cm^{-1} podem ser relacionadas à deformação axial assimétrica da ligação O-C-C. Também, podem ser encontradas bandas entre 1000 cm^{-1} a 900 cm^{-1} referentes à deformação angular simétrica fora do plano de ligação C-H de olefinas. Além disso, diferenças mais significativas entre os espectros de óleos, ésteres e do óleo diesel podem ser observadas na região de 2240 a 2270 cm^{-1} , na qual ocorrem combinações de estiramentos de ligações C-O e C=O (RUSCHEL et al., 2016).

4.MATERIAL E METODOS

4.1. OBTENÇÃO DO EXTRATO DE COBRINA

As folhas de cobrina foram coletadas pela equipe do laboratório LAQUA, no dia 9 de setembro de 2016 na rua Armando Goi 159, bairro Morada do Sol- Ijuí, Rio Grande do Sul, Brasil. No local, o clima é classificado como Cfa de acordo com a classificação climática Köppen e Geiger. A temperatura média anual em Ijuí é 19.9 °C. No mês da coleta a temperatura média foi de 18.1°C e a pluviosidade foi de 159 milímetros. No dia da coleta a planta estava sem inflorescência ou frutificações.

As folhas de cobrina foram secas à temperatura ambiente e, posteriormente moídas em liquidificador. A seguir, 20,67g das mesmas foram submetidas à extração contínua em aparelho de Soxhlet durante 26 horas utilizando metanol como solvente. O extrato obtido foi filtrado e o solvente foi removido em rotaevaporador à vácuo para obtenção de um extrato bruto e seco (livre de solvente).

4.2.SOLUÇÃO DE COBRINA PARA EXECUÇÃO DO TRABALHO

Para a realização dos experimentos foi preparada uma solução de cobrina a partir do extrato seco obtido conforme item 4.1. A extração contínua metanólica das folhas de cobrina rendeu 15,62% (m/m) em extrato seco equivalente a 3,2295g de extrato. O extrato seco foi transferido para um balão volumétrico e o volume completo até 250 mL (solução mãe). A seguir foi preparada a solução da trabalho retirando-se uma alíquota de 77,41 mL, da solução mãe, e foram diluídos em 100 mL de metanol. Esta solução contém 10000ppm de extrato de cobrina.

4.3. DETERMINAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS DO EXTRATO DE COBRINA

Para determinar a concentração de compostos fenólicos procedeu-se pelo método do Azul da Prússia segundo Margraf et al. (2015). Utilizando microplacas de 96 poços, em triplicata, adicionaram-se 100µL do extrato vegetal metanólico na concentração de 2 mg L⁻¹ de amostra em solução hidroalcoólica, 100µL de solução de cloreto férrico hexaidratado (FeCl₃.6H₂O) diluído em HCL 0,01 mol L⁻¹. Em seguida, 100 µL de solução de 0,53 mmol L⁻¹ de Ferricianeto de potássio (K₃ [Fe (CN)₆] foi adicionada. A leitura foi realizada em leitor de microplaca da marca BIOTEK no comprimento de onda de $\lambda = 725$ nm. A concentração de fenólicos totais foi expressa em mg de ácido gálico equivalente em 100g de extrato seco.

4.4. PREPARAÇÃO DO BIODIESEL DE SOJA

O biodiesel, para este trabalho, foi preparado pela reação de transesterificação dos triacilglicerídeos de óleo de soja degomado. Foi utilizado como catalisador básico NaOH e a reação ocorreu por rota metílica. Para a reação foi utilizada a proporção de 2:1:0,01 de óleo de soja, metanol e NaOH respectivamente. A mistura reacional permaneceu sob agitação magnética durante 1h à temperatura de 70°C. Posteriormente a mistura foi transferida para um funil de separação, onde foi removida a fase da glicerina e o biodiesel foi lavado com HCl 0,1 mol.L⁻¹ e água destilada. Em seguida o produto foi seco com sulfato de sódio anidro, filtrado e armazenado em frasco âmbar sob refrigeração.

4.5 CARACTERIZAÇÃO DO BIODIESEL DE SOJA

4.5.1. Cor e aspecto

De acordo com a RESOLUÇÃO ANP Nº 45, DE 25.8.2014 o biodiesel deve-se apresentar límpido e isento de impurezas. Para esta determinação, a amostra foi adicionada em um recipiente transparente e colocada contra a luz para verificar se o está de acordo com a Norma.

4.5.2 Massa específica

A massa específica foi determinada por picnometria. Utilizando um picnômetro calibrado de 25 mL, as análises foram realizadas em triplicata à temperatura de 20°C (SANTO FILHO, 2010).

4.5.3 Viscosidade cinemática

A viscosidade cinemática foi determinada de acordo com a norma ASTM D 445 na temperatura de 40°C, utilizando um banho da marca Láctea, viscosímetro tipo Cannon Fenske, termômetro da marca Jubalo regulamentado segundo ASTM 120C-86.

4.5.4 Ponto de fulgor

O Ponto de Fulgor do biodiesel foi determinado utilizando o aparelho de ponto de fulgor tipo Pensky – Martens, vaso fechado, pelo método *Tiegel Apparat Geschlossenem*, com termômetro aferido (ASTM E1), de acordo com a normativa

NRB 7974 e ASTM D 56. A amostra, 50 mL $\pm$ 0,5 mL, foi colocada na cuba de ensaio com a tampa fechada, foi aquecida lentamente, com uma taxa de elevação de temperatura constante. Uma fonte de ignição foi direcionada para dentro do recipiente em intervalos regulares. O ponto de fulgor foi corrigido de acordo com a pressão barométrica, conforme a fórmula: Ponto de fulgor corrigido = °C + 0,0033 (760mmHg-P).

4.5.5 Taxa de conversão de triacilglicerídeos em ésteres metílicos

A taxa de conversão dos triacilglicerídeos em ésteres metílicos foi verificada por espectroscopia de RMN de H^1 , em equipamento da marca BRUKER modelo ASCEND de 400 MHz. A avaliação da conversão em ésteres metílicos ocorreu pela relação dos valores da integral dos sinais de RMN dos hidrogênios correspondentes ao grupo $-OCH_3$ em δ 3,6 ppm e a integral dos sinais correspondentes ao sinal dos hidrogênios metilênicos do carbono adjacente à carbonila ($\alpha-CH_2$) em δ 2,3 ppm.

Segundo método proposto por Ruschel et al. (2016), utilizou-se o sinal do hidrogênio do grupo metileno adjacente ao grupo carbonila ($\alpha-CH_2$) em δ 2,3 ppm. A integral deste sinal foi escolhida como referência para o cálculo, uma vez que está presente em todas as moléculas de derivados de triglicerídeos, incluindo o óleo que não reagiu, mono e diglicerídeos e todas as outras espécies de cadeia longa que podem ser formados durante o procedimento. O cálculo da conversão da reação, pela relação dos valores da integral dos sinais de RMN de hidrogênio a partir dos hidrogênios do éster metílico (ME) e dos átomos de hidrogênio no grupo metileno adjacente ($\alpha-CH_2$) à carbonila, conforme equação 1.

$$Taxa\ de\ convers\tilde{a}o = 100 \times \left(\frac{\frac{I_{me}}{3}}{\frac{I_{CH_2\alpha}}{2}} \right) \quad (eq.1)$$

Na equação 1 o I_{me} é o valor da integral do sinal dos hidrogênios metoxílicos (OCH_3) e $I_{\alpha-CH_2}$ é o valor da integral dos hidrogênios metilênicos adjacentes à carbonila do éster (RUSCHEL et al., 2016).

4.5.6 Determinação do perfil de ácidos graxos

A determinação do perfil de ácidos graxos foi realizada por cromatografia gasosa, com equipamento da marca Perkin-Elmer modelo Clarus 580 com detector de ionização de chama munido de coluna tipo Elite-Wax, com 60 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro e com a fase estacionária de 0,5 mm de espessura. Utilizou-se uma rampa de aquecimento com temperatura inicial de 190°C, taxa de aquecimento de 10°C min⁻¹ até 230°C, permanecendo nesta por 20 minutos. Tanto o injetor quanto o detector possuem temperatura fixa de 230°C durante toda a análise. Utilizou-se um volume de injeção de 1,0 µL de amostra. A amostra de biodiesel foi solubilizada em *n*-hexano grau HPLC.

4.5.7 Estabilidade oxidativa

A estabilidade oxidativa foi determinada com o equipamento Rancimat 893 marca Metrohm. Os ensaios foram conduzidos com uma amostra de (3,00 ± 0,01) g de biodiesel de soja, a qual foi submetida ao processo de oxidação acelerado com uma taxa de insuflação de ar constante de 10L h⁻¹ e mantendo a temperatura de 110°C, conforme metodologia estabelecida pela norma EN14112. Utilizaram-se 50 mL de água deionizada, monitorada continuamente através de eletrodos. O aparelho é acoplado ao computador e, com auxílio do *software Stabnet* as informações geradas são armazenadas e processadas. O *software* estabelece por cálculos integrais o ponto máximo entre o aumento da condutividade da água e o tempo de análise, chamado de tempo de indução, que corresponde à oxidação secundária do biodiesel (LOYALL; ZUMBRÄGEL; KALCHER, 2017)

As amostras de biodiesel foram aditivadas com extrato metanólico bruto proveniente das folhas de cobrina para verificar o comportamento do período de indução. Ou seja, observar se o mesmo é prolongado pela ação do extrato citado. A solução de cobrina preparada conforme descrito no item 4.2, foi adicionada diretamente ao tubo de ensaio, nas seguintes condições:

-controle sem adição de antioxidante (0 ppm), e nas concentração de 100, 200, 233, 400, 500, 1000 ppm, estas concentrações foram escolhidas de acordo a literatura, sendo comum a concentração de 1000 ppm como mostra na tabela 3.

Além disso foram utilizados outros antioxidantes (sinergistas) junto com aditivo de cobrina. Estes sinergistas foram: ácido cítrico, ácido ascórbico, αTocoferol e TBHQ. Isto foi realizado nas seguintes proporções:

- cobrina (0,09%) +Ácido cítrico (0,0033%) ou +Ácido ascórbico (0,0033%) ou + α -Tocoferol (0,0033%) ou +TBHQ (0,0033%).

4.6 ANÁLISE TÉRMICA

A análise termogravimétrica do biodiesel de soja e do biodiesel de soja aditivado, com o extrato metanólico de cobrina, foi realizada no equipamento TGA-50 da marca Shimadzu. Foi utilizado um cadinho de α - alumina aberto, com uma rampa de aquecimento de 35°C a 650°C, com razão de aquecimento de 10°C min⁻¹, em atmosfera de ar sintético com vazão de 150 mL min⁻¹. A metodologia foi adaptada da literatura (BORSATO et al. (2014); RUIS et al. (2014)). Os dados foram processados no *software* TA-60Ws e analisados posteriormente no *software* Origin.

4.7. ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER

Foi analisada por espectroscopia de infravermelho por Transformada de Fourier utilizando-se o equipamento Shimadzu Prestige 21 localizado no Complexo de Laboratórios Multiusuários (C-LABMU) da UEPG. Foram preparadas pastilhas de KBr das amostras sendo essas analisadas no intervalo de 400 cm⁻¹ a 4000 cm⁻¹ com uma resolução de 4 cm⁻¹ e acumulação de 64 scans. O teor de material utilizado na pastilha foi de 1% (m/m) (100 mg de KBr e 1mg de amostra) confeccionadas conforme ASTM D 2702. Os dados gerados foram analisados pelo *software* Origin pro 8.

4.8. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

A verificação se a distribuição de frequências dos erros amostrais é Normal foi realizada pelo teste de Normalidade de Shapiro, S. S. and Wilk, M. B. (1965) disponível na versão online implementada por Simin Dittami (2009). Segundo Lopes et al. (2016) o Teste de Shapiro-Wilk é eficiente para diferentes distribuição e tamanhos de amostras, considerando que uma distribuição Normal ou distribuição de Gauss, é representada por um gráfico simétrico em forma de sino, essa especificação é determinada pela média e pelo desvio padrão, quando a distribuição de dados é Normal, a média se encontra no centro da distribuição e essa possui o mesmo valor da mediana e da moda, devido a simetria da curva. A hipótese nula (H_0) para o teste de Shapiro-Wilk é que as amostras são provenientes de uma

população Normal, rejeita-se H_0 no nível de significância de α se na estatística W de Shapiro-Wilk, $W_{\text{calculado}} < W_{\text{tabelado}}$.

Verificou-se a Homocedasticidade pelo teste de Hartley. Segundo Banzatto (1989), o teste de Hartley é o de mais fácil aplicação e é eficiente quando o número de tratamento é inferior a 12 e quando os tratamentos têm o mesmo número de repetições, neste teste H_0 é aceito quando as variâncias dos tratamentos são semelhantes (homogêneas). Baseado no teste F de homogeneidade de variâncias, Hartley propôs comparar a maior e a menor variância entre as amostras, usando o valor crítico ou F_{max} para determinar a razão da maior variância sobre a menor. Assim, H_0 é aceita quando F_{max} é menor que Hartley tabelado (H).

A análise de variância (ANOVA) foi realizada no *software SISVAR 5.6* para verificar se existe uma diferença significativa entre os resultados e se os fatores exercem influência em alguma variável dependente. Foi utilizada a estatística F, denominada de razão de variação, que pode ser definida como sendo o quociente de duas estimativas de variância, supostas independentes. Na análise de variância as estimativas de variação são dadas pelos quadrados médios (QM), obtendo um QM para cada causa de variação, tendo em um experimento casualizado duas estimativas de variâncias, uma devida aos efeitos dos tratamentos, e a outra devido aos fatores residuais. As hipóteses que testamos quando aplicamos o teste F são: Se $F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabelado}}$ o teste é significativo no nível testado (α), rejeitando-se a hipótese de nulidade (H_0), e concluímos que os efeitos do tratamento diferem nesse nível de probabilidade, e essas diferenças não devem ser atribuídas ao acaso, mas sim ao efeito dos tratamentos. Já se $F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabelado}}$, aceita-se H_0 e não é possível comprovar a diferença entre os efeitos do tratamento nesse nível α (BANZATTO, 1989).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 POLIFENÓIS TOTAIS DO EXTRATO DE COBRINA

A análise para verificar a concentração de compostos fenólicos foi realizada pelo método do Azul da Prússia. Margraf et al. (2015) comprovou em suas análises que existe uma correlação entre o método do Azul da Prússia e o método Folin-Ciocalteu (comumente escolhido pelos pesquisadores), pontuando que as vantagens do método do azul do Prússia em comparação com o Folin-Ciocalteu é a simplicidade, o menor tempo de reação (15 min em relação a 60 min), menor quantidade de reagentes, e principalmente maior seletividade. Os resultados de ambas as análises são expressos em mg Equivalente de Ácido Gálico (EAG) /g extrato seco.

Utilizando o método do azul da Prússia, com leitura em 725nm, obteve-se o resultado de $79,87 \pm 175$ mg EAG g⁻¹ de extrato seco, para as folhas de cobraína extraídas em metanol.

Sari et al. (2016) pelo método Folin-Ciocalteu (740 nm) encontraram 23,34 mg de EAG g⁻¹ de compostos fenólicos nas folhas *T. catharinensis* extraídas com acetato de etila e etanol, indicando, de maneira indireta que o extrato metanólico pode extrair uma maior quantidade de compostos fenólicos.

Piana et al. (2014), verificaram a composição de compostos polifenólicos em frutas e ramos de cobraína, utilizando o método Folin-Ciocalteu a 730 nm. Nos frutos obteve uma concentração de mg EAG /g extrato seco 311.52 ± 0.9 para o extrato em clorofórmio, 221.12 ± 1.64 em acetato de etila, 111.97 ± 0.09 em n-butanol e 71.03 ± 0.2 para o extrato bruto. Nos ramos obteve-se 191.50 ± 2.0 para o extrato em clorofórmio, 397.94 ± 1.39 em acetato de etila, 248.70 ± 1.92 em n-butanol e 42.47 ± 1.41 para o extrato bruto. Concluindo que como compostos fenólicos são extraídos em maior concentração de frações polares, foi coerente encontrar maiores concentrações destes compostos em frações de acetato de etila e n-butanol nos ramos.

O método Folin-Ciocalteu (730 nm) também foi utilizado por Boligon et al. (2013), a partir do extrato etanólico das folhas de cobraína suspenso em água e particionado sucessivamente com diclorometano, acetato de etila e n-butanol. Obteve-se 189.04 ± 1.09 mg EAG /g extrato seco para o extrato com diclorometano, 562.78 ± 0.08 com acetato de etila, 413.52 ± 0.34 para o extrato em butanol,

corroborando para os dados que relacionam a quantidade de compostos fenólicos com a atividade antioxidante.

Rubin et al. (2017) pelo método Folin-Ciocalteu (730 nm) verificaram a composição de fenóis de cobrina, obtendo como resultado $177,2 \pm 0,15$ EAG /g extrato seco do extrato hidroetanólico e $107,9 \pm 0,03$ mg/g do extrato diclorometânico, correlacionado ao fato do extrato hidroetanólico apresentou também maior atividade antioxidante do que o extrato diclorometânico pelo método do DPPH.

Existe uma significativa diferença de concentração de fenólicos nas partes da planta, raiz, caule, galhos, folhas, frutos e sementes, assim como, o solvente utilizado na extração influencia diretamente nos compostos extraídos, Barbi et al. 2016, comparando a extração da chia (*Salvia Hispanica L.*) com água, éter, metanol, ou etanol, verificou que o metanol foi capaz de extrair maior quantidade de compostos fenólicos, com valores entre $15,93 \pm 0,19$ a $32,50 \pm 3,15$ mg EAG.L-1, o que também apresentou uma correlação direta com a ação antioxidante, demonstrando também uma atividade antioxidante mais elevada.

A quantidade de compostos fenólicos encontrados no extrato alcoólico cobrina, foi superior a muitas especiarias e ervas aromáticas estudadas como antioxidantes para biodiesel.

De acordo com Gonçalves, Santos e Moraes (2015), o teor de fenólicos totais (μg de ácido gálico/mL de extrato) do alecrim foi de $29,0 \pm 13,0$; cebolinha $3,0 \pm 3,0$; cominho $48,0 \pm 0,0$; majoriça $7,0 \pm 7,0$; orégano $41,0 \pm 33,0$; salsa $3,0 \pm 6,0$ e tomilho $21,0 \pm 10,0$. Assim como Alezandro et. al. (2011), que obteve a concentração de compostos fenólicos expressa em equivalente grama de catequina em 100g de extrato seco, obtendo $12,8 \pm 0,2$ para manjeriça; $2,4 \pm 0,1$ para cebolinha; $0,145 \pm 0,002$ para cebola; $30, \pm 0,2$ para o orégano, $1,05 \pm 0,01$ para salsinha; $22,0 \pm 0,2$ para alecrim e $3,21 \pm 0,4$ para açafrão.

Os resultados também mostram uma correlação positiva entre o conteúdo fenólico encontrado e a atividade antioxidante. Para Spacino, et. al. (2016) a os extratos alcoólicos de alecrim, orégano e manjeriça obtiveram respectivamente 17, 662, 16, 306, 1,939 mg EAG por g extrato seco, e atingiram com 8000 ppm de extrato 9:40, 9:20, 8:02h de período de indução. Fernandes et al. (2015), obtiveram 39.8 ± 0.7 mg EAG por g de extrato etanólico de *Moringa Oleifera*, e com 1000 ppm

do extrato, 21, 2h de período de indução, indicando que quanto maior o valor de composto fenólicos, maior é a proteção ao biodiesel.

5.2 CARATERIZAÇÃO DO BIODIESEL DE SOJA

5.2.1 Determinação do perfil de ácidos graxos

A determinação do perfil de ácidos graxos foi realizada pela composição dos ésteres de ácidos graxos que compõem o biodiesel de soja. A Tabela 3 apresenta a composição em ésteres do biodiesel preparado para o estudo, os dados obtidos estão de acordo com a literatura. Segundo SOUSA et al. (2014) a maior percentagem corresponde ao ácido linoléico C18:2 com 55,63%, seguido de ácido oléico C18:1 com 22,81%, e ácido palmítico C 16:0 com 11,60%, contendo também ácido esteárico e linolênico em menores proporções. Assim como Farias et al. (2016), que encontrou as concentrações de 42,62% de C18:2, 36,02 % de C18:1 e 6,95% de C 16:0 bem como C18: 0 e C18:3.

Tabela 4: Perfil de ácidos graxos do biodiesel de soja produzido por cromatografia gasosa

Nomenclatura	Tempo de retenção (min)	(%)
Palmítico (C-16:0)	8,38	10,66
Esteárico (C-18:0)	11,34	3,98
Oléico (C-18:1)(9)	12,36	26,56
Linoléico (C-18:2)(9,12)	13,19	52,05
Linolênico (C-18:3)(6,9,12)	15,01	6,75

Fonte: A autora

Esta análise permite estimar se uma determinada matéria prima é apropriada ou não para a produção de um biodiesel que atenda os parâmetros de qualidade desejados, baseando-se na sua composição química. A composição em ácidos graxos presente na matéria prima escolhida é mantida após a reação de transesterificação, refletindo nos ésteres metílicos de ácidos graxos obtidos e consequentemente nos parâmetros de qualidade do biodiesel em termos físicos e químicos. Uma das características afetada, por exemplo, é a estabilidade oxidativa,

na qual quanto maior a percentagem de ácidos graxos insaturados presente é mais suscetível à degradação, comumente por auto-oxidação ou polimerização em certas condições de ambientais (Ferrari; Oliveira; Scabio, 2005). Além disso, outras características são afetadas como a viscosidade cinemática, o índice de iodo, entre outras. Estas propriedades se encontram relacionadas ao desempenho do biocombustível no motor, como o desempenho da bomba de injeção, a emissão de particulados após a combustão, como discutido no item 3.2. e 3.5.

5.2.2 Caracterização físico-química do biodiesel de soja

Foram determinadas as seguintes características físico-químicas do biodiesel de soja preparado: visualização da cor e o aspecto, massa específica, viscosidade, ponto de fulgor e foi verificada a taxa de conversão de triacilglicerídeos em ésteres metílicos. Na tabela 4 apresentam-se os valores encontrados para as propriedades físico-químicas do biodiesel de soja, e biodiesel de soja acrescido de extrato metanólico de cobraína na concentração de 1000 ppm, este último utilizado para avaliar o efeito da solução antioxidante no biodiesel.

Tabela5: Caracterização físico-química do biodiesel de soja, com e sem o extrato metanólico de cobraína

Parâmetros de qualidade	Biodiesel	Biodiesel + 1000 ppm de cobraína	ANP
Cor e aspecto	LII	LII	LII
Massa específica (kg m ⁻³)	876 ± 0,02	869 ± 0,04	850 a 900
Viscosidade (mm ² s ⁻¹)	4,18 ± 0,00	3,96 ± 0,07	3,0 a 6,0
Ponto de fulgor (°C)	Superior a 100,0	-	Mín. 100,0
Taxa de conversão em Éster (%)	96,9	-	Mín. 96,5

Fonte: A autora

Os parâmetros para cor e aspecto, massa específica, viscosidade, ponto de fulgor, taxa de conversão em éster das amostras do biodiesel foram conformes de

acordo com os valores de referência estabelecidos pela ANP. Os valores encontrados também são condizentes com a literatura, Sousa et al. (2014) estudando o biodiesel metílico de soja obteve para a massa específica $884,5 \text{ kg m}^{-3}$ $4,12 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$ de viscosidade cinemática, e $176,5^\circ\text{C}$ para o ponto de fulgor. Valores próximos aos encontrados por Zuniga et al. (2011), com $3,97 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$ de viscosidade e 139°C de ponto de fulgor.

Os parâmetros de qualidade estabelecem valores limites de contaminantes que não venham prejudicar a qualidade das emissões da queima, bem como o desempenho, a integridade do motor, a segurança no transporte e manuseio e evitar a degradação do produto. Compreender os parâmetros de qualidade auxilia na escolha da matéria prima, no processo de produção que será escolhido, na escolha das condições de armazenagem e estimativas da emissão de partículas emitidas (KNOTHE; GARPEN; KRAHL, 2005).

A análise preliminar de cor e o aspecto do biodiesel permitem verificar a presença de impurezas que possam ser identificadas visualmente, como materiais em suspensão, sedimentos ou mesmo turvação na amostra geralmente associada à presença de água. A presença de impurezas também poderá influenciar na densidade do biodiesel como, por exemplo, o álcool ou substâncias adulterantes, sendo importante o parâmetro massa específica. A massa específica aumenta quanto maior o tamanho da cadeia carbônica e diminui com o número de insaturações das suas moléculas, igualmente para a viscosidade, o que influencia no processo de queima na câmara de combustão do motor. Além disso, a alta viscosidade ocasiona heterogeneidade na combustão do biodiesel, devido à diminuição da eficiência de atomização na câmara de combustão, ocasionando a deposição de resíduos nas partes internas do motor. Já o ponto de fulgor é considerado a temperatura mínima onde é observada a liberação de vapores de um líquido, em quantidade suficiente para formar uma mistura inflamável com o ar, é um parâmetro muito importante quanto à segurança no armazenamento e no transporte, principalmente quando a transesterificação for realizada com metanol que, além de altamente inflamável, apresenta elevada toxicidade. Estes entre os outros parâmetros escolhidos são necessários para comercialização do produto (Lôbo; Ferreira; Cruz, 2009).

Como observado anteriormente (tabela 3) a composição de óleo de soja apresenta 85,4% em ácidos graxos insaturados, e isto é uma desvantagem na

produção do biodiesel. Provavelmente, de antemão, poder-se-ia dizer que dificilmente os valores do índice de oxidação do biodiesel estarão de acordo com as exigências da ANP. Contudo, a disponibilidade e características mercadológicas a tornam popular no setor, e a necessidade de trabalhar com *blends* de matérias primas ou aditivações é inevitável. No caso estudado, a opção de aditar o biodiesel de soja com um extrato com potencial antioxidante, deve além de aumentar a estabilidade oxidativa, garantir que os demais parâmetros não sejam alterados. Neste caso, os parâmetros estudados não sofreram alterações significativas ao serem aditivados com o extrato de cobrina como pode ser observado na tabela 3. Em complemento a estes fatos tanto, o espectro de RMN ^1H , disponível na figura 10, a análise térmica apresentada na figura 12, como o espectro de infravermelho apresentado na figura 13, que será discutido no item 5.4 não acusaram alterações que possam vir a prejudicar o biodiesel.

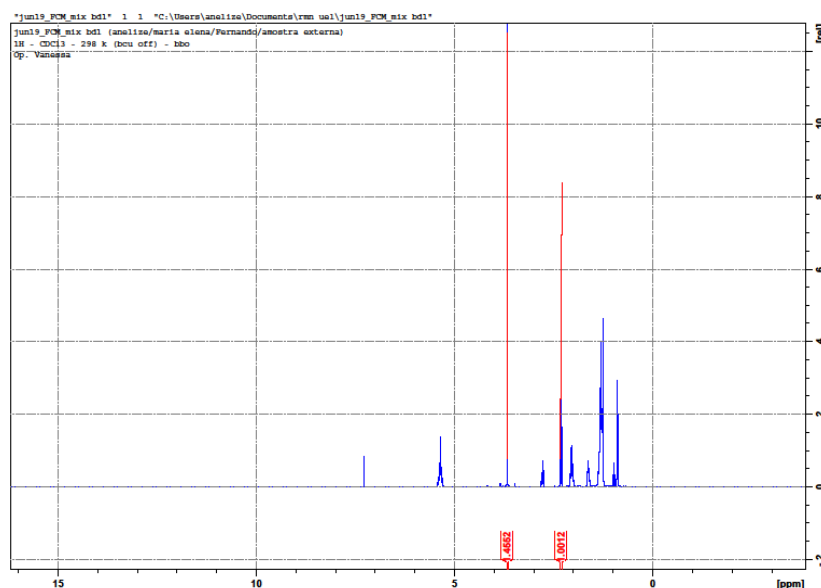
Os parâmetros de qualidade relacionados a taxa de conversão em éster e a estabilidade oxidativa serão discutidas nos itens 5.2.3 e 5.2.4 respectivamente.

5.2.3 Taxa de conversão em Ésteres

A taxa de conversão em ésteres alquílicos de ácidos graxos foi determinada visando avaliar a conversão dos triacilglicerídeos presentes na matéria prima em éster metílico, apenas quanto à taxa de conversão excede o valor de 96,5% (m/m) segundo os parâmetros da ANP, que o produto reacional é chamado de biodiesel e só assim pode ser comercializado.

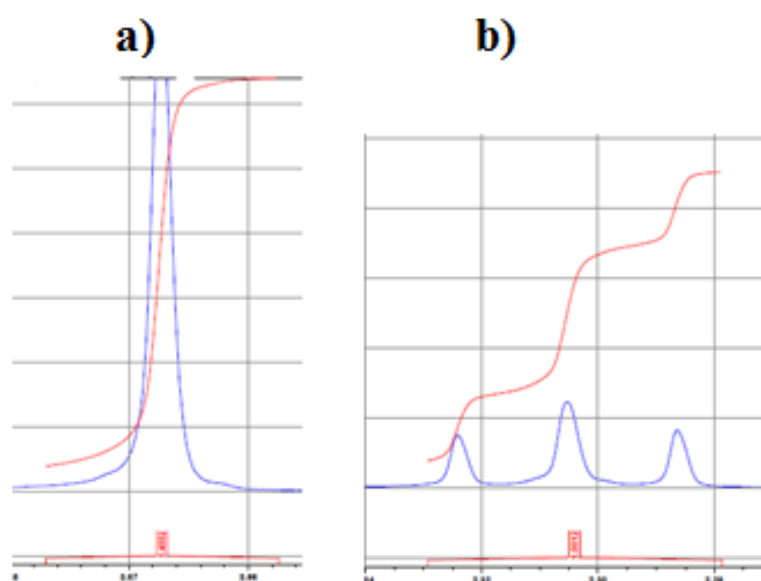
Segundo os cálculos efetuados por meio da equação da taxa de conversão (eq. 1) item 4.5.5 do biodiesel de soja apresentou uma conversão de massa de ácidos graxos inicial convertida em ésteres metílicos, de 96,9%. Isto foi calculado utilizando espectro de RMN de ^1H da figura 8

Figura8: Espectro de RMN de ^1H do biodiesel de soja.



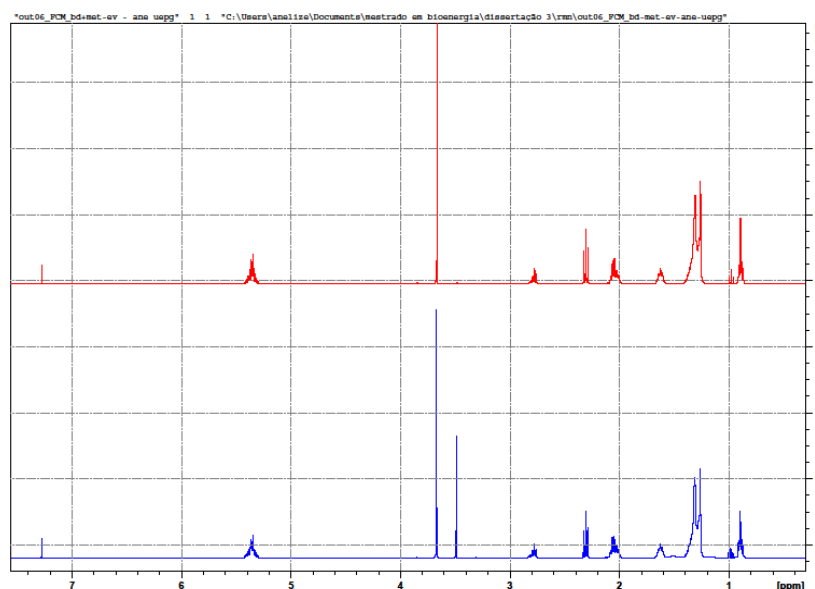
Os sinais correspondentes ao singlete dos hidrogênios metilênicos da metoxila do éster (I_{me}) em $\delta 3,6$ ppm e correspondentes ao tripleto dos hidrogênios metilênicos α à carbonila ($I_{CH_2(\alpha)}$) foram ampliados, para melhor visualização, e são apresentados na figura 9.

Figura 9: a) Singlete correspondente aos H metilênicos da metoxila do éster e b) Tripleto correspondente aos H metilênicos α à carbonila



A adição do extrato de cobraína no biodiesel de soja, não alterou significativamente seu espectro de RMN ^1H , este comparativo pode ser observado na figura 10. O espectro de ^1H do biodiesel de soja aditivado (representado em azul sob o espectro do biodiesel de soja puro representado em vermelho), o qual apresentou um pico adicional em 3,5 ppm que poderia corresponder ao solvente do extrato.

Figura 10: Comparativo dos Espectros de RMN de ^1H do biodiesel de soja (em vermelho) e do biodiesel de soja aditivado com extrato de cobraína (em azul)



5.2.4 Estabilidade Oxidativa do biodiesel de soja

A avaliação da ação antioxidante do extrato metanólico de cobraína nas concentrações de 0,100,200,233,400,500 e 1000ppm foram determinadas pelo método Rancimat, expressos em período de indução (h), estão apresentados na tabela 6. Os extratos apresentaram ação antioxidante, retardando o processo de oxidação e aumentando o período de indução significativamente em relação ao controle, biodiesel sem o aditivo. Entretanto as concentrações testadas não atenderam a exigência de 8h estabelecida pela ANP.

Tabela 6: Período de indução do biodiesel de soja aditivado com extrato metanólico de cobrina em diferentes concentrações

Amostra	Aditivo (mg)	Concentração do aditivo em Biodiesel (%) m/m	Concentração do aditivo (ppm)	Período de indução (h)
Extrato metanólico de cobrina	0,00	0,0000	0	4,74 ± 0,351
	0,30	0,0100	100	5,49 ± 0,354
	0,60	0,0200	200	5,95 ± 0,083
	0,70	0,0230	233	6,47± 0,199
	1,20	0,0400	400	6,53 ± 0,415
	1,50	0,0500	500	7,31± 0,199
	3,00	0,1000	1000	7,41 ± 0,116

Fonte: A autora

O biodiesel de soja foi aditivado com 7 concentrações crescentes de antioxidante e quatro repetições de cada concentração em um delineamento experimental inteiramente aleatorizado.

Os resultados do período de indução do extrato metanólico provém de uma população Normal no nível de significância de 5% seguinte o teste de Shapiro-Wilk. Como resultante do teste para $n=28$, os dados apresentaram um W de 0,9557 para $\alpha=0,05$, um p -valor de $=0,92$, com um desvio quadrático (SD) de 1,06; H_0 foi aceito, considerando W tabelado de 0,924 para $n=28$ e $\alpha=0,05$.

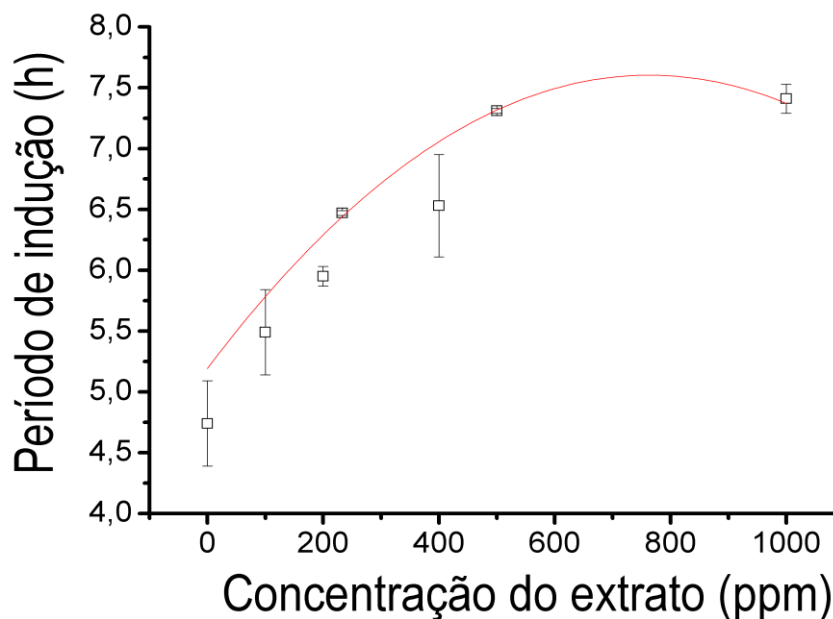
Uma vez que os dados apresentam distribuição Normal, verificou-se a Homocedasticidade pelo teste de Hartley. Os resultados apresentaram Homocedasticidade, neste caso H_0 foi aceita para HARTLEY (<72) - considerando o número de tratamentos mais o controle. Assim, como para o extrato metanólico $F_{max}=12,7$, considerou-se que as variâncias das amostragens são homogêneas.

Para resultados do extrato de cobrina o teste F (ANOVA) foi significativo no nível de probabilidade de 5% com um grau de confiança 95%. Com um $n=28$ e 6 graus de liberdade para os tratamentos e 21 graus de liberdade para o erro amostral; para o extrato de cobrina metanólico o valor de F calculado foi de 47,040, com SQ de 22,3242 e um QM de 3,7190 para os tratamentos.

Existindo distribuição normal dos dados e homocedasticidade verificou-se a correlação entre os efeitos das concentrações de antioxidante no biodiesel de soja. Por meio da curva de regressão polinomial, pode-se estimar a dose de antioxidante

que nestas condições experimentais obtiveram o melhor resultado, ou seja, o maior período de indução. Assim para o extrato metanólico com um coeficiente de determinação de $R^2=0,96$ o ponto máximo seguindo a equação ($y= (-4.10^{-6}) x^2 + (6,8.10^{-3}) x + 4,7993$) foi de 850 ppm com um período de indução correspondente de 7,69h (gráfico 3)

Gráfico 3: Regressão polinomial dos dados correspondentes aos tratamentos com extrato metanólico



Fonte: A autora

Com relação à literatura (tabela 3 do item 3.7) o extrato de cobrina foi superior ao extrato clofômico de alecrim, extrato de orégano, majericão, hortelã, cascas de castanha de caju e cevada macera. No levantamento pode-se constar que β -caroteno, candeia e erva mate foram nestes estudos considerados extratos pró-oxidantes, diminuindo o período de indução em relação ao controle e favorecendo a oxidação. E o extrato etanólico de *Moringa oleifera* pode ser considerado como um dos antioxidantes mais eficientes do levantamento.

Os antioxidantes sintéticos ainda são considerados mais eficientes em relação aos naturais (ZHOU; XIONG; LIU, 2017). Entretanto, muitos deles são tóxicos e apresentam pouca biodegradabilidade (SOUZA, et al. 2014). Justificando a necessidade do estudo de diferentes extratos naturais como antioxidantes para biodiesel, os quais ainda não são utilizados em escala industrial e podem apresentar potencial para a substituição total ou parcial dos sintéticos.

Com o intuito de atender a especificação da norma EN14214, verificou-se o potencial de sinergismo entre o extrato vegetal e ácido ascórbico, ácido cítrico, alfa-tocoferol e TBHQ.

Primieri e Oliveira (2015, BR 10 2013 009606-7 A2) investigando a utilização de saburá (pólen coletado pela abelha *Tetragonista angustula*) como antioxidante para biodiesel obteve um período de indução de $12,3h \pm 0,04$, para 5000 ppm ou 0,5% (m/m) e resultados mais satisfatórios adicionando ácido cítrico no extrato estudado, com uma mistura de 4500ppm de saburá com 500ppm de ácido cítrico elevou-se o período de indução para $13,6h \pm 0,06$.

Assim como Maia et. al. 2016 (BR 102016004639-4 A2) que potencializou a cevada maturada na concentração de $11g. L^{-1}$ com 0,1% de ácido cítrico aumentando o período de indução de 5,8h e para 7,9h. Baseado na metodologia destes trabalhos, buscou-se verificar o efeito dos antioxidantes comerciais e ação da mistura do extrato em estudo com ácido cítrico, ácido ascórbico, α - tocoferol e TBHQ cujo os dados estão apresentados na tabela 7.

Tabela 7: Ação antioxidante de aditivos comerciais e sinergismos entre aditivos comerciais com extrato metanólico de cobrina

Misturas	Aditivo (mg)	Concentração do aditivo em Biodiesel (%) m/m	Concentração do aditivo (ppm)	Período de indução
ácido cítrico	0,10	0,0033	33	$6,95 \pm 0,030$
ácido ascórbico	0,10	0,0033	33	$7,22 \pm 0,354$
α -Tocoferol	0,10	0,0033	33	$6,11 \pm 0,226$
TBHQ	0,10	0,0033	33	$11,5 \pm 0,608$
Cobrina (0,09%) +Ácido cítrico (0,0033%)	2,90	0,093	933	$8,94 \pm 0,026$
Cobrina (0,09%) +Ácido ascórbico (0,0033%)	2,90	0,093	933	$9,30 \pm 0,809$
Cobrina (0,09%) + 3 α Tocoferol (0,0033%)	2,90	0,093	933	$8,17 \pm 0,342$
Cobrina (0,09%) +TBHQ (0,0033%)	2,90	0,093	933	$13,43 \pm 0,351$

Fonte: a autora

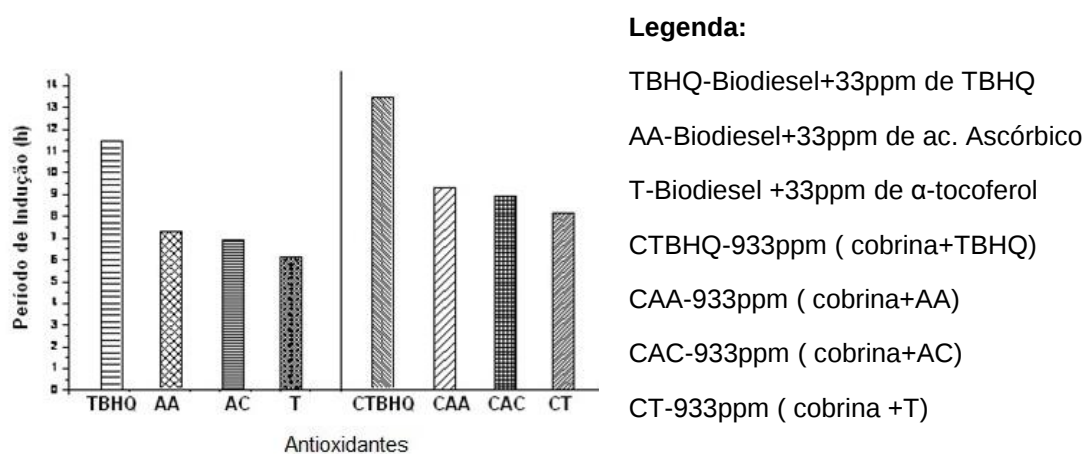
Verificou-se o efeito sinérgico, visto que o período de indução da mistura do extrato vegetal metanólico do estudo, com os aditivos comerciais foi estatisticamente

maior que o período de indução correspondente ao aditivo sozinho na mesma concentração. O melhor efeito sinérgico nas concentrações testadas foi para TBHQ, ácido ascórbico, ácido cítrico e α -tocoferol respectivamente.

Todas as misturas atenderam os limites da ANP, ultrapassando as requeridas 8h de período de indução. Quanto aos demais aspectos de qualidade exigidos pela ANP, o ácido ascórbico, apesar do período de indução significativo, reprovou quanto à caracterização do biodiesel no requisito aspecto, não sendo solúvel nem em biodiesel nem em metanol, no final do teste Rancimat a amostra apresentou-se com formações de precipitados, o que não ocorreu nas demais situações testadas.

Com base no gráfico 4, pode-se verificar o comparativo entre o resultado do efeito dos antioxidantes comerciais, em contraste com a ação sinérgica entre o extrato e respectivos antioxidantes α -tocoferol, ácido ascórbico, ácido cítrico e TBHQ.

Gráfico 4: Comparativo do efeito dos antioxidantes comerciais e do efeito sinérgico destes com o extrato de cobrina



Fonte: A autora

Os antioxidantes podem ser primários, removedores de oxigênio, agentes quelantes e mistos, como comentado anteriormente no item 3.7 (KUMAR, 2016). O extrato das folhas estudado é construído provavelmente de polifenóis, flavonoides, alcaloides, taninos condensados, rutina, um glicósido de quercetina e ácido clorogênico, ambos reconhecidos como antioxidantes ativos, e seu mecanismo de ação antioxidante provavelmente é primário. E teve maior efeito sinérgico com o antioxidante primário TBHQ, cuja composição química permite a doação de um

próton ao radical livre formado no processo de oxidação, interrompendo ou diminuindo o mecanismo de auto-oxidação do biodiesel (CRUZ, 2014).

Na sequência, apresentou melhores resultados em conjunto com o ácido ascórbico, que atuam capturando os oxigênios presentes no meio, tornando-os indisponíveis para atuarem como propagadores da auto-oxidação. Podendo o ácido ascórbico segundo *Finlays Tea Solutions* (2009), atuar como sinergista na regeneração de antioxidantes primários.

O terceiro melhor período de indução foi com o ácido cítrico, que é um composto não fenólico in natura, que contribuem efetivamente para a estabilização a oxidação. Agem como agentes de inativação de traços metálicos (COWAN; COONEY; EVANS, 1962).

E por fim, o sinergismo com o α -tocoferol, que tem como mecanismo antioxidante, a captura de oxigênio do meio (GALVÃO, 2007).

Todas as misturas podem ser estudadas a fim de gerar uma concentração adequada de mistura que possa exercer um efeito antioxidante considerável e superior aos sintéticos sozinhos, entretanto só o fato do TBHQ em mistura à um aditivo natural apresentar efeito sinérgico é significativo, e pode ser estudado a fim de obter a mistura ideal que vem a minimizar os impactos ambientais do antioxidante sintético, assim como reduzir custos associados à produção (ORIVES; et al. 2014).

5.3 ANÁLISE TERMICA

A avaliação da degradação do biodiesel sob condições controladas de temperatura foi realizada com o intuito de verificar a estabilidade térmica do biodiesel, e do biodiesel aditivado com extrato de cobrina, verificando que o perfil de decomposição do biodiesel / biodiesel aditivado são similares.

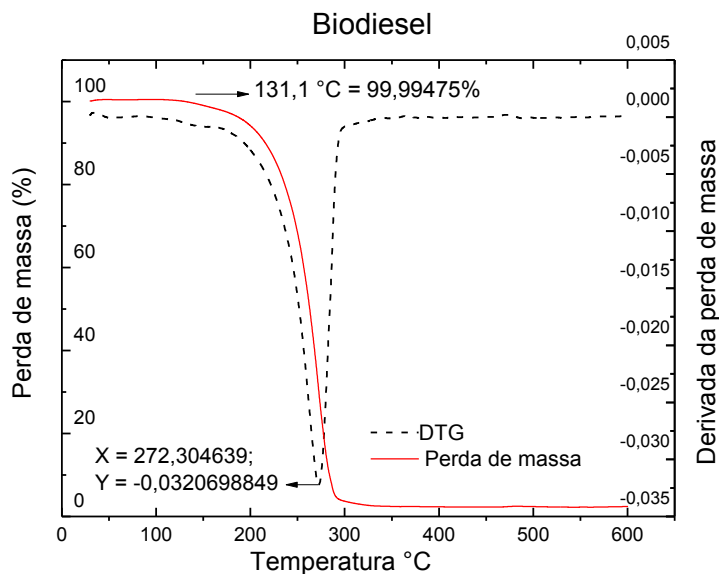
As curvas de TG/DTG possibilitaram a verificação das temperaturas de decomposição do biodiesel de soja e do biodiesel de soja com extrato metanólico de cobrina sob atmosfera de ar sintético.

A atmosfera de ar sintético proporciona a degradação oxidativa. Segundo a literatura a perda de massa mais significativa observada na curva de TG corresponde a volatilização dos ésteres metílicos do biodiesel (CANDEIA, 2008).

Observando as curvas da figura 11 pode se concluir que se encontra de acordo o descrito anteriormente. Pode-se observar apenas uma etapa de degradação térmica iniciada a temperatura de 131,1 °C e isto corresponde a

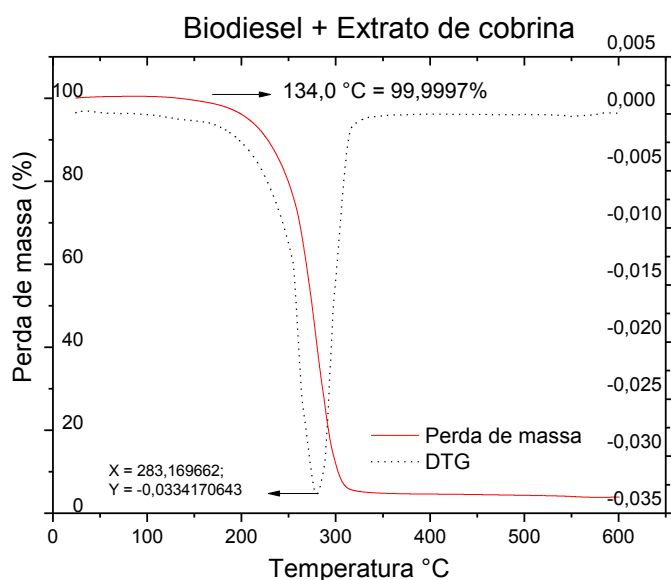
99,9947% da massa. Já a degradação do biodiesel de soja com aditivo de cobrina, figura 12, iniciou sua perda de massa em 134,0 ° C correspondendo a 99,9997% da massa, esta diferença possivelmente se deva à ação protetora antioxidante do aditivo natural.

Figura 11: Curvas de TG/DTG do biodiesel de soja



Fonte: A autora

Figura 12: Curvas de TG/DTG do biodiesel de soja com o extrato de cobrina



Fonte: A autora

Marinho (2012) obteve com atmosfera de ar sintético, para o biodiesel de soja um intervalo de degradação que iniciou em 125,43 °C – 289,37° C, correspondendo uma perda de massa de 99,65%.

Leonardo (2012) obteve curvas de TG/DTG com atmosfera de ar sintético da amostra de biodiesel metílico, nas quais o início da perda de massa ocorre a 113° C, com temperatura de onset de 204 °C, e as perdas de massa devido à queima do material carbonoso residual se iniciam a 250 °C e terminam a 495°C.

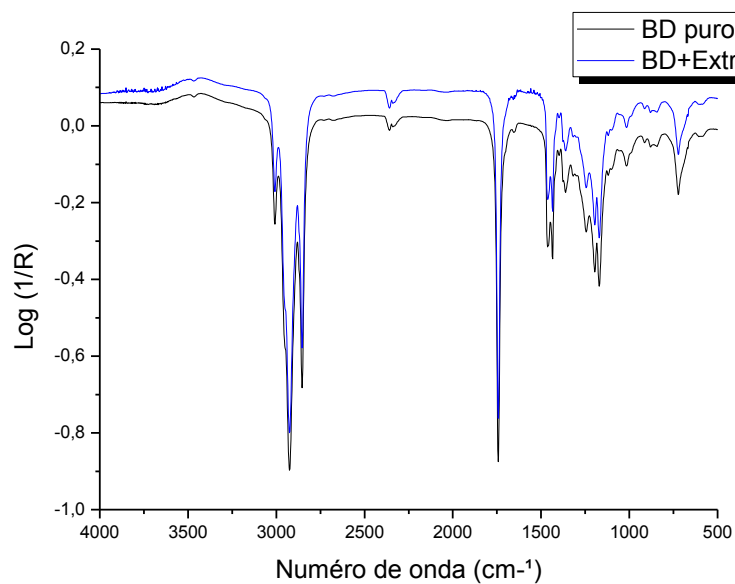
Para Candeia (2008), o biodiesel metílico de soja em atmosfera de ar sintético e razão de aquecimento de 10°C, a amostra apresentou 4 perdas de massa sendo a inicial correspondente a um intervalo de temperatura de 96°C a 273°C correspondendo a 76,9% da perda de massa.

5.4 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER

As regiões do espectro de infravermelho podem ser analisadas quanto às vibrações específicas de cada ligação química das moléculas que compõe a amostra.

O biodiesel sintetizado apresentou as bandas características condizentes com a literatura, conforme apresentado na figura 13, os quais foram indicados no item 3.10, enfatizando a região de 900 a 1300 cm⁻¹, que é chamada região de “impressão digital” do biodiesel, por corresponder as vibrações de deformação axial da ligação C-O dos ésteres (Correa, 2012).

Figura 13: Espectro de infravermelho do biodiesel de soja puro comparado com o biodiesel de soja aditivado com o extrato de cobrina.



Fonte: a autora

Em comparação o biodiesel aditivado com o extrato em questão, observou-se que as bandas características do biodiesel permanecem inalteradas, assim como também não se observaram bandas adicionais que poderiam ser consideradas como contaminações.

6-CONCLUSÕES

Com o intuito de investigar as potencialidades do extrato das folhas de cobrina, *Tabernaemontana catharinensis*, como aditivo antioxidante em biodiesel de soja foi preparado numa primeira etapa o biodiesel. O mesmo foi analisado em relação as suas propriedades físico-químicas. O biodiesel produzido apresentou-se em conformidade com as normas da ANP, exceto na estabilidade oxidativa, que antes de ser aditivado atingiu um período de indução de apenas $(4,74 \pm 0,35)$ h.

O extrato metanolico de folhas de cobrina, *Tabernaemontana catharinensis* apresentou uma concentração de fenóis totais, elevada $(79,87 \pm 175 \text{ mg g}^{-1}$ de EAG) em comparação às quantidades encontradas em outras especiarias e ervas com capacidade antioxidantes conhecidas.

O extrato metanolico de folhas de cobrina, *Tabernaemontana catharinensis*, foi avaliado frente ao biodiesel de soja, em diferentes concentrações e foi observada a capacidade antioxidante do mesmo, pois na concentração de 1000 ppm do extrato, adicionadas, ao biodiesel o período de indução aumentou para $(7,41 \pm 0,160)$ h. Entretanto para atingir o valor necessário das normas da ANP o aditivo de cobrina foi potencializado com outros antioxidantes como ácido cítrico, ácido ascórbico, TBHQ e α -tocoferol com papel sinergista. Nestas condições de aditivo potencializado comprovou-se que o biodiesel em todos os casos atingiu o tempo de indução necessário exigido pelas normas da ANP.

A Termogravimetria do biodiesel e biodiesel aditivado com extrato metanólico indicou que o extrato não influenciou significativamente a degradação térmica do biodiesel, mas que existe a tendência do aditivo retardar a degradação do mesmo uma vez que as condições experimentais levam a oxidação acelerada na presença do calor e ar sintético.

7-REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Acervo Flora digital do Rio Grande do Sul: Disponível e: < http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/index.php?pag=buscar_mini.php&especie=5>

AGOSTINI-COSTA, T. D. S.; GARRITI, D. D. S.; LIMA, L. Avaliação De Metodologias Para Determinação De Taninos No Suco De Caju. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 17, n. 2, 1999. Disponível em: <<http://revistas.ufpr.br/alimentos/article/view/13789>>.

ALEZANDRO, M. R.; LUI, M. C. Y.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Commercial spices and industrial ingredients: evaluation of antioxidant capacity and flavonoids content for functional foods development. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.31, n. 2, p. 527–533, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010120612011000200038&lng=en&nrm=iso&tlng=en>.

AMAROWICZ, R.; PEGG, R. B.; RAHIMI-MOGHADDAM, P.; BARL, B.; WEIL, J. A. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. **Food Chemistry**, v. 84, n. 4, p. 551–562, 2004.

ANP. Anuário Estatístico Brasileiro do Petróleo Gás Natural e Biocombustível: 2016. **Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis**, p. 264, 2016.

ANP. Portaria nº 45, de 25 de agosto de 2014.

BARBI, R. C.; TANAMATI, AILEY A.C. **Extração e quantificação de compostos fenólicos e antioxidantes da chia (Salvia hispânica L) usando diferentes concentrações de solventes.** Trabalho apresentado ao curso de Engenharia de Alimentos. UTFPR. Campo Mourão. p. 37, 2016.

BASTOS, F. A.; TUBINO, M. The use of the liquid from cashew nut shells as an antioxidant in biodiesel. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, n. 5, p.747–755, 2017.

BANZATTO, D.A.; DO NASCIMENTO, S. K. Experimentação Agrícola. 3D.Jaboticabal: FUNEP, 247p. 1995.

BRASIL. Centro Nacional de Dados Climáticos. **Climate-Data.org.Dados climáticos para cidades mundiais. Climate-Data.org >América do Sul >Brasil >Rio Grande do Sul >Ijuí.** 2016. Disponível em: < <https://pt.climate-data.org/location/43847/> >

BERGMANN, J. C.; TUPINAMBÁ, D. D.; COSTA, O. Y. A.; et al. Biodiesel production in Brazil and alternative biomass feedstocks. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 21, p. 411–420, 2013.

BOLIGON, A. A.; DE FREITAS, R. B.; DE BRUM, T. F.; et al. Phytochemical constituents and in vitro antioxidant capacity of *Tabernaemontana catharinensis* A.DC. **Free Radicals and Antioxidants**, v. 3, n. 2, p. 77–80, 2013.

BORSATO, D.; CINI, J. R. D. M.; SILVA, H. C. Oxidation kinetics of biodiesel from soybean mixed with synthetic antioxidants BHA, BHT and TBHQ: Determination of activation energy. **Fuel Processing Technology**, v. 127, p. 111–116, 2014. Elsevier B.V. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fuproc.2014.05.033>>.

CANDEIA, R. A. **Biodiesel de Soja: Síntese, Degradação e Misturas Binárias.** , p.150, 2008. Disponível em: <http://150.165.145.1/posgrad/teses/Tese_Roberlucia_Candeia.pdf>.

CARVALHO, A. L.; SANTANA, S. M. F.; SILVA, C. S. Evaluation of the oxidative stability of biodiesel blends from soybean, tallow and castor bean using experimental mixture design. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, n. 8, p. 1373–1379, 2013.

CANTERLE, L.P. **Erva Mate atividade antioxidante.** Dissertação. Programa de Tecnologia dos alimentos. Santa Maria. RG. 2005.

CHANSQUIBOL,N.S; LENGUA,L.C; DELMÁS,I;RIVERA,D.C; BAZAN,D; AGUIREE,R.M;BRAVO,M.A. Alimentos funcionales o fitoquímicos, classificacion e importância. **Rev. Per. Quim. Ing. Quim.** V.5. n.2. p- 9-20. 2003.

CHRISTENSEN, E.; MCCORMICK, R. L. Long-term storage stability of biodiesel and biodiesel blends. **Fuel Processing Technology**, v. 128, p. 339–348, 2014. Elsevier B.V. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fuproc.2014.07.045>>.

CLARK, W. M.; MEDEIROS, N. J.; BOYD, D. J.; SNELL, J. R. Biodiesel transesterification kinetics monitored by pH measurement. **Bioresource Technology**, v. 136, p. 771–774, 2013.

COSTA, P. P. K. G. Catalisadores químicos utilizados na síntese de Biodiesel. **Documentos: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.** p.26. 1ed. 2011.

CORREA, C. **Avaliação do uso de espectroscopia no infravermelho para controle e garantia de qualidade para blends de Biodiesel/Diesel. Usando Cartas de controle multivariadas.** Trabalho, Química Tecnologia. Porto Alegre. 2012

COWAN, J. C.; COONEY, P. M.; EVANS, C. D. Citric Acid: Inactivating Agent for Metals Acidic Synergist in Edible Fats? **The journal of the american oil chemists' society.**v.39. p. 1612, 1962

CREMONEZ, P. A.; FEROLDI, M.; DE JESUS DE OLIVEIRA, C.; et al. Oxidative stability of biodiesel blends derived from different fatty materials. **Industrial Crops and Products**, v. 89, p. 135–140, 2016.

CRUZ, R. G. Atividade antioxidante de extratos vegetais: **Estudo de extração e aplicação de sistema Lipídico**. Dissertação. Programa de ciências e tecnologia de alimentos. Piracicaba. 2013.

DE OLIVEIRA, A.C; VALENTIM, I.B; GOULART, M. O. F. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v.32, n.3, p.689-702, 2009.

DEL RÉ, V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: Aplicações em alimentos e implicações na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 14, n. 2, p. 389–399, 2012.

DENARI, G. B.; CAVALHEIRO, É. T. G. **Princípios e Aplicações de Análise Térmica**. Material de apoio curso teórico prático. São Carlos. p. 40, 2012.

DEWICK, P. M. Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach. **Chapter 6. Alkaloids**. 2001 < DOI: 10.1002/0470846275.ch6>.

DUNN, R. O. Antioxidants for improving storage stability of biodiesel. **Biofuels, Bioprod. Bioref.**v. 2. p:304–318 .2008.

FARIAS, A. F. F.; DA CONCEIÇÃO, M. M.; CAVALCANTI, E. H. S.; et al. Analysis of soybean biodiesel additive with different formulations of oils and fats. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 123, n. 3, p. 2121–2127, 2016.

FERNANDES, D. M.; SOUSA, R. M. F.; DE OLIVEIRA, A.; et al. Moringa oleifera: A potential source for production of biodiesel and antioxidant additives. **Fuel**, v. 146, p.75–80, 2015. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2014.12.081>>.

FERRARI, R. A.; DE SOUZA, W. L. Avaliação da estabilidade oxidativa de biodiesel de óleo de girassol com antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 1, p. 106–111, 2009.

FILHO, F. C.; PEDROSA, P.; AZEVEDO, E.; et al. **Resenha Energética Brasileira - Exercício de 2016**. , p. 32, 2017. Disponível em: <www.mme.gov.br/documents/10584/3580498/02++Resenha+Energética+Brasileira+2017+-+ano+ref.+2016+%28PDF%29/13d8d958-de50-4691-96e33ccf53f8e1e4?version=1.0>.

FISCHER, P; MACHADO,M.M; DE OLIVEIRA, L.F.S; DA ROCHA, M.B; GOMES,G.S; DA ROCHA,M.F. **Análise Fitoquímica Preliminar do Manjeriço (Ocimum basilicum L.), com Ênfase nos Compostos Antioxidantes**. v. 5, n. 2 .2013.

FINLAYS TEA SOLUTIONS. *Os antioxidantes*. Food ingredients Brazil. N.6. 2009.
TOLEDO, E. M. **Estudo das propriedades estruturais da curcumina no vácuo usando dinâmica molecular de car-parrinello**. Dissertação. Programa de Ciências Moleculares. Goiás. 2013.

FOCKE, W. W.; WESTHUIZEN, I. VAN DER; GROBLER, A. B. L.; et al. The effect of synthetic antioxidants on the oxidative stability of biodiesel. **Fuel**, v. 94, p. 227–233, 2012. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2011.11.061>>.

GALVAN, D; ORIVES,J.R; COPPO,R.L; RODRIGUES,C. H. F; SPACINO,K.R; PINTO,J.P; BORSATO,D. Estudo da cinética de oxidação de biodiesel b100 obtido de óleo de soja e gordura de porco: determinação da energia de ativação. **Química Nova**. v.37, n. 2, p.244–248, 2014.

GALVÃO, L. P. F. C.; SANTOS, A. G. D.; GONDIM, A. D. Comparative study of oxidative stability of sunflower and cotton biodiesel through P-DSC. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 106, n. 2, p. 625–629, 2011.

GALVÃO, L. P. F. DE C. **Avaliação termooanalítica da eficiência de antioxidantes na estabilidade oxidativa do biodiesel de mamona.** , p. 159, 2007.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374–381, 2007.

GONÇALVEZ, J. H.T; SANTOS, A.S; MORAIS, H. A. Atividade antioxidante, compostos fenólicos totais e triagem fotoquímica de ervas condimentares desidratadas. **Revista da Universidade do Vale do Rio Verde**. V.13.n.1. 2015.

GUTIÉRREZ-OPPE, E. E. Gestão da Qualidade do biodiesel no Brasil comparada com modelos internacionais. **Gepros: Gestão da Produção, Operações e Sistemas**, v. 8, n. 2, p. 131–149, 2013.

HAMA, S.; KONDO, A. Enzymatic biodiesel production: An overview of potential feedstocks and process development. **Bioresource Technology**, v. 135, p. 386–395, 2013.

HARKER, K. N.; O'DONOVAN, J. T.; BLACKSHAW, R. E.; et al. Effect of agronomic inputs and crop rotation on biodiesel quality and fatty acid profiles of direct-seeded canola. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 93, n. 4, p. 577–588, 2013.

HAYYAN, A.; MJALLI, F. S.; HASHIM, M. A.; et al. Ethanesulfonic acid-based esterification of industrial acidic crude palm oil for biodiesel production. **BioresourceTechnology**, v. 102, n. 20, p. 9564–9570, 2011.

HOEKMAN, S. K.; BROCH, A.; ROBBINS, C.; CENICEROS, E.; NATARAJAN, M. Review of biodiesel composition, properties, and specifications. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 1, p. 143–169, 2012.

IONASHIRO, M.GIOLITO. **Fundamentos da termogravimetria análise térmica diferencial, calorimetria exploratório diferencial.** Araraquara. Giz editorial, 2004.96p.

ISOLANI, K. A.; TONIN, J. M. Produção de biodiesel no Brasil com o advento do Selo Combustível Social e os impactos na agricultura familiar Biodiesel Production in Brazil after the Advent of “Selo Combustível Social ” and Impacts on Family Farms. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**, v. 28, p. 157–171, 2013.

JAIN, S.; SHARMA, M. P. Thermal stability of biodiesel and its blends: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, n. 1, p. 438–448, 2011.

JOHNSON, O. C.; KUMMEROW, F. A. Chemical changes which take place in an edible oil during thermal oxidation. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 34, n. 8, p. 407–409, 1957.

KARMAKA, A.; KARMAKA, S.; MUKHERJEE, S. Properties of various plants and animals feedstocks for biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 19, p. 7201–7210, 2010.

KLOCK, U.; MUÑIZ, G. I. B.; ANZALDO, J. H.; ANDRADE, A. Química da Madeira. **Manual Didático. Departamento de Engenharia e Tecnologia Florestal - Fupef do Paraná**, p. 86, 2005.

KNOTHE, G.; GARPEN, J. V.; KRAHL, J. The Biodiesel Handbook. **AOCS**. 2005

KUMAR, N. Oxidative stability of biodiesel: Causes, effects and prevention. **Fuel**, v. 190, p. 328–350, 2017.

LAKO, J.; TRENNERY, V. C.; WAHLQVIST, M.; WATTANAPENPAIBOON, N.; SOTHEESWARAN, S.; PREMIER, R. Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available. **Food Chemistry**. V. 101, n. 4. P. 1727-1741. 2007.

LEONARDO, R. DA S. **Estudo da estabilidade de biodiesel com misturas de antioxidantes por um método de p-dsc de baixa pressão. Dissertação. Programa em tecnologia de processos químicos e bioquímicos**. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 2012.

LÔBO, I.; FERREIRA, S.; CRUZ, R. Biodiesel: quality parameters and analytical methods. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1596–1608, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010040422009000600044&script=sci_arttext>

LORDÊLO, M.; SILVA, C.; SILVA COSTA, R. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity in plant products. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669–682, 2010.

LOYALL, U.; ZUMBRÄGEL, B.; KALCHER, M. Determination of the oxidative stability of biodiesel (fatty acid methyl esters, FAME). **Metrohm AG, CH-9101 Herisau/Switzerland**, p. 9101. Disponível em: <<http://www.metrohm.com/com/Applications> (search for 8.000.6081EN) >.

LOZANO, C. C. A. *LOARCA-PIÑA, G; LECONA-URIBE, S; MEJI, E.G.* El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. **Archivos latinoamericanos de nutrición**. 2014.

MACHADO, M. F.; BRASIL, A. N.; OLIVEIRA, L. S.; NUNES, D. L. Estudo do crambe (*Crambe abyssinica*) como fonte de óleo para produção de biodiesel. **ENERBIO**. 2006

MACKENZIE, R.C. *Physicochemical Methods of Mineral Analysis*. **Thermal Analysis**. CHAPTER 10. p.389. 1957.

MAIA, GUILHERME. A. R; BOSCHEN, NAYARA.L; D'ELIA, E; PIANARO, M.G; GALLINA, A.L; DAS CUNHA, M.T; CRISOSTIMO, C; RODRIGUES, P.R.P. Processo de produção de biodiesel na presença de antioxidante natural derivado do resíduo de cevada. Brasil. **BR 102016004639-4 A2**. 2017.

MARGRAF, T.; KARNOPP, A. R.; ROSSO, N. D.; GRANATO, D. Comparison between Folin-Ciocalteu and Prussian Blue Assays to Estimate The Total Phenolic Content of Juices and Teas Using 96-Well Microplates. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 11, p. C2397–C2403, 2015.

MARINHO, R.B. **Estudo da Estabilidade Termo-oxidativa de Biodiesel por Rancimat, PetroOXY e Termogravimetria**. Dissertação. Mestrado em Química. Vitória. 2012.

MARTINS, R.; RAMOS, S. DE F.; TORQUATO, S. A. Possibilidades para o biodiesel: análise da eficiência na produção de algodão, amendoim e soja nas regionais de desenvolvimento rural do Estado de São Paulo. **Informações Econômicas**, v. 37, n. 6, p. 7–16, 2007.

MEDEIROS, M. L.; CORDEIRO, A. M. M. T.; QUEIROZ, N.; et al. Efficient Antioxidant Formulations for Use in Biodiesel. **Energy & Fuels**, 2013.

MEHER, L. C.; VIDYA SAGAR, D.; NAIK, S. N. Technical aspects of biodiesel production by transesterification - A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 10, n. 3, p. 248–268, 2006.

MITTELBACH, M. Diesel fuel derived from vegetable oils .6. Specifications and quality control of biodiesel. **Bioresource Technology**, v. 56, n. 95, p. 7–11, 1996.

MONTANUCI, F. D. **Avaliação do efeito das variáveis de processo na produção de malte de cevada e na produção de bebidas tipo chá**. Tese. Programa de Engenharia de Alimentos. Curitiba. 2014.

MOSER, B. R. Efficacy of gossypol as an antioxidant additive in biodiesel. **Renewable Energy**, v. 40, n. 1, p. 65–70, 2012.

MORAIS, F. L. **Carotenóides. Características biológicas e químicas. Especificação em Qualidade dos alimentos**. Brasília. Março. 2006.

MORALES, F. J. La familia apocynaceae s. str. (Apocynoideae, Rauvolfioideae) en Uruguay. **Darwiniana**, v. 48, n. 1, p. 68–86, 2010.

NICOLA, C. SALVADOR, M; GOWER, A.E; MOURA, S; ECHEVERRIGARAY,S. Chemical Constituents Antioxidant and Anticholinesterasic Activity of *Tabernaemontana catharinensis*. **Hindawi Publishing Corporation The ScientificWorld Journal**. 2013.

NILO, M.C. DOS S.S. **Composição química e atividade antioxidante da hortelã pimenta (*mentha piperita*)**. Dissertação. Programa de Alimentos e Nutrição. Rio de Janeiro. 2015.

ORIVES, J. R.; GALVAN, D.; PEREIRA, J. L.; COPPO, R. L.; BORSATO, D. Experimental Design Applied for Cost and Efficiency of Antioxidants in Biodiesel.**JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 91, n. 10, p. 1805–1811, 2014.

PAIVA. D.L. LAMPMAN, G. M; KRIZ,G.S;VIVYAN,J.R. Introdução a espectroscopia.4.ed.**CENGAGE Learning**.2010.

PAULILLO, L. F.; VIAN, C. E. D. F.; SHIKIDA, P. F. A.; MELLO, F. T. DE. Álcool combustível e biodiesel no Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 45, n. 3, p. 531–565, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010320032007000300001&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>.

PIANA, M.; BOLIGON, A. A.; DE BRUM, T. F. Phytochemical analysis and antioxidant capacity of *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. Fruits and branches.**Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 86, n. 2, p. 881–888, 2014.

PINHO, D. M. M.; SUAREZ, P. A. Z. Do óleo de Amendoim ao Biodiesel-Históricoe Poloítica Brasileira para o Uso Energético de óleos e Gorduras. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 1, p. 39–51, 2017.

PINTO, L. M.; DE SOUZA, A. L.; SOUZA, A. G.; SANTOS, I. M. G.; QUEIROZ, N.Comparative evaluation of the effect of antioxidants added into peanut (*arachishypogae* l.) oil biodiesel by P-DSC and rancimat. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 120, n. 1, p. 277–282, 2015.

PINZI, S.; GANDÍA, L. M.; ARZAMENDI, G.; RUIZ, J. J.; DORADO, M. P. Influence of vegetable oils fatty acid composition on reaction temperature and glycerides conversion to biodiesel during transesterification. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 2, p. 1044–1050, 2011.

PRIMIERY,C; DE OLIVEIRA,R. S. Aditivo natural antioxidante a base de saburá, para o uso em biodiesel e biodiesel contendo aditivo natural de saburá. Brasil. **BR 10 2013 009606-7 A2**. 2015.

PULLEN, J.; SAEED, K. An overview of biodiesel oxidation stability. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 8, p. 5924–5950, 2012.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755–760, 2006.

RAMOS, L. P.; KOTHE, V.; OLIVEIRA, C. M. A. F.; et al. **Matérias-Primas, Tecnologias de Produção e Propriedades Combustíveis Biodiesel**: v. 9, n.1. 2017.

RASHED, M. M.; KALAM, M. A.; MASJUKI, H. H.; et al. Stability of biodiesel, its improvement and the effect of antioxidant treated blends on engine performance and emission. **RSC Adv.**, v. 5, n. 46, p. 36240–36261, 2015. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C4RA14977G>>.

RICO, J. A. P.; SAUER, I. L. A review of Brazilian biodiesel experiences. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 45, p. 513–529, 2015.

RIZWANUL FATTAH, I. M.; MASJUKI, H. H.; KALAM, M. A.; WAKIL, M. A.; et al. Performance and emission characteristics of a CI engine fueled with Cocos nucifera and *Jatropha curcas* B20 blends accompanying antioxidants. **Industrial Crops and Products**, v. 57, p. 132–140, 2014. Elsevier B.V. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.03.022>>.

RIZWANUL FATTAH, I. M.; MASJUKI, H. H.; KALAM, M. A.; MOFIJUR, M.; ABEDIN, M. J. Effect of antioxidant on the performance and emission characteristics of a diesel engine fueled with palm biodiesel blends. **Energy Conversion and Management**, v. 79, p. 265–272, 2014. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.enconman.2013.12.024>>.

RUBININ, R.H; DEUSCHLE, V. C. N; BOLIGON, A.A; CRUZ, R.C; DEUSCHLE, R. A. N. Caracterização fitoquímica, atividade antioxidante e antimicrobiana de *Tabernaemontana catharinensis* **DC. Rev. Bras. Farm.** V.98. n.1.p. 1747 – 1763, 2017.

RUIS, C. P. MOTHÉ, M.G; ARAÚJO, C.R; MOTHÉ, C. G. Comparação Por Tg / Dtg E Dta de Biodiesel Sintetizado a Partir Do Óleo. **ABRATEC**, IX Congresso Brasileiro de Análise Térmica e Calorimetria, p. 2–7, 2014.

RUSCHEL, C. F. C.; FERRO, M. F.; DOS SANTOS, F. P.; SAMIOS, D. Otimização do Processo de Transesterificação em duas etapas para produção de biodiesel. **Química Nova**, v. 39, n. 3, p. 267–272, 2016.

SANTACESARIA, E.; VICENTE, G. M.; SERIO, M. DI; TESSER, R. Main technologies in biodiesel production: State of the art and future challenges. **Catalysis Today** v. 195, p. 2–13, 2012.

SANTO FILHO, D. M. DO E. **Metrologia aplicada à análise de biodiesel**. Tese: Pós graduação em engenharia mecânica. Universidade Fluminense. Rio de Janeiro. p. 298, 2010.

SANTOS, N. A.; DAMASCENO, S. S.; DE ARAÚJO, P. H. M.; et al. Caffeic acid: An efficient antioxidant for soybean biodiesel contaminated with metals. **Energy and Fuels**, v. 25, n. 9, p. 4190–4194, 2011.

SARI, R. **Otimização Da Extração De Compostos Fenólicos E Avaliação Do Potencial Antioxidante E Antibacteriano Das Folhas De (*Tabernaemontana Catharinensis*)**. UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ. Pato Branco. p. 1–48, 2016.

SARIN, A.; ARORA, R.; SINGH, N. P.; SHARMA, M.; MALHOTRA, R. K. Influence of metal contaminants on oxidation stability of Jatropha biodiesel. **Energy**, v. 34, n. 9, p.1271–1275, 2009. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.energy.2009.05.018>>.

SAYDUT, A.; ERDOGAN, S.; KAFADAR, A. B. Process optimization for production of biodiesel from hazelnut oil, sunflower oil and their hybrid feedstock. **Fuel**, v. 183, p. 512–517, 2016.

SHAHID, E. M.; JAMAL, Y. Production of biodiesel: A technical review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. v. 15, n. 9, p. 4732–4745. 2011.

SIES, HELMUT; STAHL, W. Vitamins E and C, α -caroteno and other carotenoids. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 62, p. 1315S–1321S, 1995.

SILVA, E. C. DA; PAOLA, M. V. R. V. DE; MATOS, J. DO R. Análise térmica aplicada à cosmetologia. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 3, p. 347–356, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S151693322007000300004&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>.

SILVA, M. L. C; COSTA,R.S; SANTANA, A.S; KOBLITZ,M.G.B. **Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity in plant products**. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, jul./set. 2010.

SOARES, T.V; FABRI, R. L. Composição química e avaliação do potencial antioxidante e citotóxico das folhas de *eremanthus erythropappus* (dc) mcleish (candeia). **Revista eletrônica de Farmácia**. V.8.n.3.p.41 – 52. 2011.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. **Organic Chemistry**. 2012.

SOUSA, L. S.; DE MOURA, C. V. R.; DE OLIVEIRA, J. E.; DE MOURA, E. M. Use of natural antioxidants in soybean biodiesel. **Fuel**, v. 134, p. 420–428, 2014.

SOUZA, A. G.; MEDEIROS, M. L.; CORDEIRO, A. M. M. T.; et al. Efficient antioxidant formulations for use in biodiesel. **Energy and Fuels**, v. 28, n. 2, p. 1074–1080, 2014.

SPACINO, K. R.; SILVA, E. T. DA; ANGILELLI, K. G.; et al. Relative protection factor

optimisation of natural antioxidants in biodiesel B100. **Industrial Crops and Products**, v. 80, p. 109–114, 2016.

SUPRIYONO; SULISTYO, H.; ALMEIDA, M. F.; DIAS, J. M. Influence of synthetic antioxidants on the oxidation stability of biodiesel produced from acid raw *Jatropha curcas* oil. **Fuel Processing Technology**, v. 132, p. 133–138, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fuproc.2014.12.003>>.

SWRI. CHARACTERIZATION OF BODIESELOXIDATION AND OXIDATION PRODUCTS. **The Coordinating Research Council Task** .CRC Project No. AVFL-2b.August. 2005.

SILVA BRUM, E; DA ROSA MOREIRA, L.; DA SILVA, A. R. H. Tabernaemontana catharinensis ethyl acetate fraction presents antinociceptive activity without causing toxicological effects in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 191, p. 115–124, 2016.

TAN,C.P; CHE MAN, Y.B; SELEMAT,J;YOSOFF,M.S.A. Comparative studies of edible oils by diferential scanning calorimetry and oxidative stability index method. **Food Chemistry**. n 76.p- 385-389. 2002.

Teste de S. S. Shapiro and M. B. Wilk. An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples)Author(s): S. S. Shapiro and M. B. Wilk Source: *Biometrika*, **Oxford Jornals**, Vol. 52, No. 3/4 (Dec., 1965), pp. 591-611.

TROIAN,S.A; VICENZI,K; ALVES,M. Content of resveratrol and total polyphenols in whole grape, reconstituted and sweetened juice sold in southern Brazil. **Brazilian Jornal of food research**. Campo Mourão, v. 7, n. 1, p. 58-67, jan./abr. 2016.

TRZECIAK, M. B.; NEVES, M. B. DAS; VINHOLES, P. D. S.; VILLELA, F. A.Utilização de sementes de espécies oleaginosas para produção de biodiesel.**Informativo Abrates**, v. 18, n. 1, p. 30–38, 2008. Disponível em: <<http://www.ufvjm.edu.br/disciplinas/agr011/files/2013/10/Biodiesel.pdf>>.

VARATHARAJAN, K.; PUSHPARANI, D. S. Screening of antioxidant additives for biodiesel fuels. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, August. 2016, p. 0–1, 2017. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2017.07.020>>.

VERMA, P. S. M. P. Comparative analysis of effect of methanol and ethanol on Karanja biodiesel production and its optimisation. **Fuel**, v. 180, p. 164–174, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2016.04.035>>.

WEXLER, H. Polymerization of drying oils. **Chemical Reviews**, v. 64, n. 6, p. 591–611, 1964.

YAAKOB, Z.; NARAYANAN, B. N.; PADIKKAPARAMBIL, S.; K, S. U. A review on the oxidation stability of biodiesel.pdf. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 35, p. 136–153, 2014.

YANG, J.; HE, Q. S.; CORSCADDEN, K.; CALDWELL, C. Improvement on oxidation and storage stability of biodiesel derived from an emerging feedstock camelina. **Fuel Processing Technology**, v. 157, p. 90–98, 2017. Elsevier B.V. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fuproc.2016.12.005>>.

YANG, Z.; HOLLEBONE, B. P.; WANG, Z.; YANG, C.; LANDRIAULT, M. Factors affecting oxidation stability of commercially available biodiesel products. **Fuel Processing Technology**, v. 106, p. 366–375, 2013. Elsevier B.V. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fuproc.2012.09.001>>.

ZHOU, J.; XIONG, Y.; LIU, X. Evaluation of the oxidation stability of biodiesel stabilized with antioxidants using the Rancimat and PDSC methods. **Fuel**, v. 188, p.61–68, 2017.

ZULETA, E. C.; BAENA, L.; RIOS, L. A.; CALDERÓN, J. A. The oxidative stability of biodiesel and its impact on the deterioration of metallic and polymeric materials: A review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 12, p. 2159–2175, 2012.

ZUNIGA, A. D.G; PAULA,M.M; COIMBRA, J.S. R; MARTINS, E. C.A; SILVA,D.X; TELIS-ROMERO,J. Revisão: propriedades físico-químicas do biodiesel. **Pesticidas: r. ecotoxicol. e meio ambiente**, Curitiba, v. 21, p. 55-72, jan./dez. 2011.