



**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DE
BODIESEL COMERCIAL ADITIVADO COM O
ANTIOXIDANTE EUGENOL E COM TBHQ**

Talita Cuenca Pina Moreira Ramos

**DOURADOS – MS
FEVEREIRO/2017**

AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DE BIODIESEL COMERCIAL ADITIVADO COM O ANTIOXIDANTE EUGENOL E COM TBHQ

Acadêmica: **Talita Cuenca Pina Moreira Ramos**
Orientadora: Prof^a. Dra. **Margarete Soares da Silva**
Coorientador: Prof. Dr. **Antonio Rogério Fiorucci**

“Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Recursos Naturais, área de concentração em Recursos Naturais, da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Recursos Naturais”.

Dourados – MS
Fevereiro/2017



*“Aquele que ensina com cortesia,
Sem distinção da posição que as pessoas ocupam,
Está de acordo com a vontade de Deus.”*

MEISHU-SAMA



Dedico este trabalho a Deus,
Senhor e Criador de toda a vida, e a todos que amo!

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, saúde e por toda proteção e bênçãos que me tem concedido.

A Meishu-Sama pelos ensinamentos maravilhosos que deixou em vida e pela oportunidade de conhecer Sua Obra em prol da humanidade.

Ao meu amor, amigo, alegria do meu dia, minha melhor companhia. Luiz Antônio, te amo.

Aos meus amados pais, José Carlos e Vani, pelo apoio e carinho. Amo vocês.

Aos meus irmãos lindos, Camila e Marcos Augusto. Vocês são fantásticos.

Aos meus “pais cuiabanos”, Irene Brandão e Luiz Gonzaga, grandes exemplos de vida. Obrigada por todo carinho.

À minha orientadora Margarete Soares da Silva, pela confiança depositada em mim, e por todo o apoio para a concretização deste trabalho.

Ao meu coorientador Antônio Rogério Fiorucci, meus sinceros agradecimentos pelas preciosas orientações e dicas no decorrer do trabalho.

À empresa Delta/Biocombustíveis e ao técnico de laboratório Wendel, por toda a gentileza em nos fornecer as amostras de biodiesel.

Ao grupo GEOF/UEMS, pelo auxílio nas caracterizações das amostras, durante o mestrado.

A todos os meus amigos que acreditaram e torceram por mim, no laboratório ou fora dele durante esses dois anos. Obrigada pela amizade e pelo tempo que convivemos.

À Elizângela e Rafael, da secretaria do PGRN. Vocês são especiais!

A Capes pelo suporte financeiro.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
1.1. Introdução	1
1.2. Revisão de Literatura	3
1.2.1. Óleos Vegetais	3
1.2.2. Gordura Animal	4
1.2.3. Produção de Biodiesel e Blendas	5
1.2.4. Composição Química dos Ácidos Graxos – Influência no Biodiesel	7
1.3. Técnicas Utilizadas na Caracterização de Biodiesel	9
1.3.1. Espectroscopia de Absorção no UV-Vis	9
1.3.2. Cromatografia Gasosa	10
1.4. Especificações do Biodiesel	11
1.5. Antioxidantes	12
1.6. Técnicas de Avaliação da Oxidação do Biodiesel	14
1.6.1. Índice de Acidez	14
1.6.2. Índice de Peróxido	15
1.6.3. Índice de Iodo	15
1.6.4. Estabilidade Oxidativa	15
1.7. Referências Bibliográficas	17
CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIOXIDANTE DO EUGENOL E DO TBHQ EM BIODIESEL COMERCIAL DURANTE PERÍODO DE ESTOCAGEM ..	23
RESUMO	23
ABSTRACT	23
2.1. Introdução	23
2.2. Material e Métodos	24
2.4. Resultados e discussão	28
2.5. Conclusão	42
2.6. Referências Bibliográficas	41
APÊNDICE	44

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

Figura 1	Matérias-primas utilizadas para produção de biodiesel – Perfil Nacional	. 5
Figura 2	Reação de Transesterificação	6
Figura 3	Reação de esterificação	6
Figura 4	Representação gráfica das fases de oxidação de ésteres de ácidos graxos	.. 8
Figura 5	Estrutura química do TBHQ	12
Figura 6	Estrutura química do Eugenol	13
Figura 7	Mecanismo de ação dos antioxidantes	14
Figura 8	Esquema do ensaio utilizado para a medida da estabilidade oxidativa (método Rancimat)	16

CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIOXIDANTE DO EUGENOL E DO TBHQ EM BIODIESEL COMERCIAL DURANTE PERÍODO DE ESTOCAGEM.

Figura 1	Valores de IA para todos os tratamentos, em função do tempo de estocagem	29
Figura 2	Valores de IO para todos os tratamentos, em função do tempo de estocagem	30
Figura 3	Valores de IP para todos os tratamentos, em função do tempo de estocagem	33
Figura 4	Valores de PI para todos os tratamentos, em função do tempo de estocagem	34
Figura 5	Absorção no UV em 232 nm, comprimento de onda característico de dienos conjugados, para os três tratamentos durante a estocagem	38
Figura 6	Absorção no UV para os três tratamentos com 150 dias de estocagem, destacando o comprimento de onda característico do Eugenol (282 nm)	39
Figura 7	Absorção em 270 nm e 282 nm, comprimento de onda característico de trienos conjugados, cetonas, o que caracteriza estágio oxidativo avançado e 282 nm, característico do Eugenol	39

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIOXIDANTE DO EUGENOL E DO TBHQ EM BIODIESEL COMERCIAL DURANTE PERÍODO DE ESTOCAGEM.

Tabela 1	Valores de período de indução dos antioxidantes naturais testados em diferentes concentrações em amostras de biodiesel BORF	26
Tabela 2	Valores de período de indução para amostras de biodiesel comercial produzido a partir de blenda, ausente de antioxidante e adicionados os antioxidantes Eugenol e TBHQ em diferentes concentrações	26
Tabela 3	Composição dos principais ésteres de ácidos graxos no Biodiesel	32
Tabela 4	Valores de acidez para as amostras de BC ausente, aditivadas com Eugenol e aditivadas com TBHQ	36
Tabela 5	Valores de iodo para as amostras de BC ausente, aditivadas com Eugenol e aditivadas com TBHQ	36
Tabela 6	Valores de peróxido para as amostras de BC ausente, aditivadas com Eugenol e aditivadas com TBHQ	37
Tabela 7	Valores de período de indução para as amostras de BC ausente, aditivadas com Eugenol e aditivadas com TBHQ	37

RESUMO

O biodiesel é um combustível biodegradável que pode ser produzido a partir de gorduras animais ou de óleos vegetais, e está ganhando cada vez mais espaço dentre os consumidores. Com o aumento da demanda por combustíveis produzidos a partir de matérias-primas renováveis, e também a preocupação em se manter parâmetros de qualidade durante período prolongado de estocagem, cresce a busca por antioxidantes eficientes que mantenham por maior tempo a qualidade do biodiesel. Estes podem ser sintéticos ou naturais, o que aumenta as possibilidades e alternativas de uso dessas substâncias no biodiesel. Pensando em uma alternativa ao uso de antioxidante sintético, avaliou-se através do ensaio de estabilidade oxidativa (método Rancimat), a ação antioxidante de diferentes substâncias naturais: óleo de semente de uva (OSU), vitamina E e Eugenol, em biodiesel produzido a partir de óleo residual de fritura (BORF), cuja estabilidade oxidativa estava abaixo do valor estabelecido pela resolução nº 45 da Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), que é de 8 h. Os testes foram feitos com diferentes concentrações, 500, 1.000, 5.000, 10.000, 15.000 e 20.000 mg kg⁻¹. Em todas as concentrações testadas, as amostras com Eugenol apresentaram valores de período de indução (PI) superiores aos demais antioxidantes, sendo o maior valor observado para a concentração de 15.000 mg kg⁻¹, onde o PI que marcava 3,46 h para o biodiesel isento de antioxidante, após adicionado o Eugenol nesta concentração, o PI subiu para 6,50 h. A partir desse resultado, escolheu-se o Eugenol (natural) na concentração de 15.000 mg kg⁻¹ e o antioxidante TBHQ (sintético) na concentração de 25 mg kg⁻¹ para o estudo de estocagem em amostras de Biodiesel Comercial (BC produzido a partir de blenda composta por óleo de soja e gordura animal). As amostras foram estocadas por 150 dias em estufa a 43 °C, segundo o método ASTM D4625. Através da técnica de espectroscopia de absorção (UV), de estabilidade oxidativa (método Rancimat) e de análises físico-químicos de índice de acidez, índice de peróxido e índice de iodo, pôde-se observar que o uso de matéria-prima com valor elevado de gorduras saturadas aumenta a estabilidade à oxidação e que o antioxidante Eugenol é uma alternativa viável em biodiesel, já que o mesmo apresentou maior eficiência em controlar o processo oxidativo em comparação ao TBHQ.

Palavras-chave: Degradação oxidativa, Rancimat, UV, acidez, peróxido, iodo.

ABSTRACT

Biodiesel is a biodegradable fuel that can be produced from animal fats or vegetable oils, and is gaining more and more space among consumers. With increasing of demand for fuels produced from renewable raw materials and also the concern to maintain quality parameters during an extended period of storage, search for efficient antioxidants that maintain the quality of biodiesel grows. Those antioxidants can be synthetic or natural, or increase the possibilities and alternatives of their use in biodiesel. Thinking about an alternative to using synthetic antioxidant, in the first part of this work we evaluated the antioxidant activity of different natural substances by oxidative stability test (Rancimat method): grape seed oil (GSO), vitamin E and Eugenol in biodiesel produced from residual frying oil (BRFO), whose oxidative stability was already below the value established by Resolution 45 of the National Agency of Petroleum, Natural Gas and Biofuels (ANP), which is 8 h. The tests were done with different concentrations, 500, 1.000, 5.000, 10.000, 15.000 and 20.000 mg kg⁻¹. In all tested concentrations, Eugenol presented higher induction period (PI) values than the other antioxidants, being the highest value observed for the concentration of 15.000 mg kg⁻¹, where the PI that marked 3.46 h for the antioxidant free biodiesel, after adding the Eugenol at this concentration, the PI rose to 6.50 h. From this result, Eugenol (natural) at a concentration of 15.000 mg kg⁻¹ and the antioxidant TBHQ (synthetic) at a concentration of 25 mg kg⁻¹ was chosen for the commercial biodiesel (BC produced at from soybean oil and animal fat). The samples were stored for 150 days in an oven at 43°C, according to the ASTM D4625 method. Through the technique of absorption spectroscopy (UV), oxidative stability (Rancimat method) and physical-chemical analysis of acidity index, peroxide index and iodine index, it was observed that the use of raw material with value high saturated fats increases the oxidation stability and that the Eugenol antioxidant is a viable alternative in biodiesel, since it was more efficient in controlling the oxidative process in comparison to the TBHQ.

Keywords: Oxidative degradation, Rancimat, UV. Acidity, Peroxide, Iodine.

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1.Introdução

Há algumas décadas, o mundo tem buscado um desenvolvimento sustentável, ambientalmente correto, socialmente justo e economicamente viável. No entanto, a maior parte de toda a energia mundialmente consumida provém do petróleo, do carvão e do gás natural, que são fontes limitadas (GOMES, 2009), que geram altos índices de poluição atmosférica e são alguns dos principais responsáveis pelo efeito estufa e aquecimento global (ALVES, 2012). A diversificação da matriz energética, seja pela exaustão das reservas ou pelos impactos ambientais negativos, tornou-se essencial. Uma das possíveis alternativas são os biocombustíveis derivados de óleos vegetais (RAMOS, 2007).

Além dos óleos vegetais, o óleo residual proveniente da indústria alimentícia e a gordura animal proveniente de abatedouros, que normalmente são descartados incorretamente contaminando solos e rios, também podem ser aproveitados para produção de biodiesel. Estas fontes alternativas podem ser utilizadas individualmente ou como uma mistura de óleos e gorduras na produção do biodiesel (CHRISTOFF, 2006).

Com o aumento da demanda por biodiesel e da sua capacidade de produção, crescente atenção vem sendo dada aos efeitos causados pela oxidação, durante o armazenamento. Ao longo da estocagem, o biodiesel pode sofrer degradação. Esta degradação, ao longo do tempo, acarreta alterações nas suas propriedades físico-químicas devido às reações de natureza hidrolítica, microbiológica e oxidativa. Tais alterações são aceleradas pela exposição ao ar, umidade, metais, luz e calor (BONDIOLI et al., 2003 e 2004).

Segundo Knothe (2007), a qualidade do biodiesel armazenado também depende da composição química dos óleos utilizados em sua produção. Têm-se como exemplo o biodiesel de óleo de soja, bastante utilizado tanto puro quanto misturado ao diesel derivado de petróleo, o qual apresenta uma significativa quantidade de ésteres de ácidos graxos com insaturações, que facilitam a oxidação do biodiesel, dificultando a estocagem do mesmo por longos períodos.

A manutenção da qualidade do biodiesel, necessária para difundir seu uso como combustível alternativo dependerá do desenvolvimento de tecnologias que aumentem sua resistência à oxidação durante longo tempo de estocagem. Os tratamentos com inibidores de

oxidação são promissores, uma vez que facilitam a estocagem e permitem a manipulação dos combustíveis sem requerer melhoramentos ou nova estrutura.

Para se avaliar a estabilidade oxidativa do biodiesel, algumas técnicas como o método Rancimat e a espectroscopia de absorção molecular nas regiões espectrais do ultravioleta (200-400 nm) e do visível (400-800 nm) estão dentre as mais utilizadas. O método Rancimat é considerado padrão para a determinação do PI, conforme estabelece a norma EN 14112, que integra o regulamento técnico da ANP. A espectroscopia de absorção na região do UV é largamente utilizada para a análise de um grande número de espécies inorgânicas, orgânicas e biológicas (HOLLER et al., 2009). Nesta região espectral os fótons (luz) possuem alta energia, sendo suficiente para provocar transições eletrônicas. Isso possibilita a identificação e quantificação de diversas substâncias que absorvem radiação nesta região do espectro (HOLLER et al., 2009).

Alguns autores também utilizam o método de ensaio acelerado para estabilidade de armazenamento (ASTM D4625 – estabilidade de diesel e biodiesel estocado a 43 °C), que permite monitorar de forma rápida, vários parâmetros de qualidade, como: acidez, peróxido, iodo, período de indução, etc. Sete dias de armazenamento, por este método, equivale a um mês de armazenamento à temperatura de 21 °C.

Portanto, em virtude da crescente demanda por biodiesel e da busca por alternativas que substituam o diesel fóssil, seja utilizando diferentes matérias-primas e/ou a mistura delas para a produção de biocombustíveis, bem como das diversas metodologias utilizadas para caracterizar quantitativa e qualitativamente, esta dissertação está estruturada da seguinte forma: no Capítulo 1, denominado Considerações Gerais, é feito um levantamento bibliográfico sobre os principais assuntos tratados na dissertação, como óleo vegetal, gordura animal, biodiesel/blendas e antioxidantes, bem como teste de estabilidade oxidativa (método Rancimat) e o método espectroscópico utilizado para acompanhar o processo oxidativo ao longo do tempo de estocagem. O Capítulo 2 apresenta os resultados e discussões do trabalho, os quais serão utilizados na redação de um artigo intitulado “Avaliação da Ação Antioxidante do Eugenol e do TBHQ em biodiesel Comercial Durante Período de Estocagem”. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito antioxidante do Eugenol (natural) e do antioxidante terc-butil-hidroquinona (TBHQ), sintético, em biodiesel comercial produzido a partir de blenda composta de óleo de soja e gordura animal.

1.2. Revisão de Literatura

Neste Capítulo será apresentada uma breve revisão da literatura sobre óleos vegetais, gordura animal, produção de biodiesel e blendas, apresentando o processo químico para obtenção do éster (biodiesel), as técnicas utilizadas para sua caracterização. Por fim, serão abordadas as metodologias utilizadas nessa dissertação.

1.2.1. Óleos vegetais

A maior parte de toda a energia consumida no mundo provém do petróleo, do carvão e do gás natural. Essas fontes são limitadas e com previsão de esgotamento no futuro, portanto, a busca por fontes alternativas de energia é de suma importância (SHUCHARDT, et al., 1998).

Dentre as fontes alternativas disponíveis de biomassa, consideradas adequadas para a consolidação de programas de energia renovável, os óleos vegetais têm sido priorizados por representarem excelente alternativa para a geração descentralizada de energia, valorizando potencialidades regionais e oferecendo alternativas aos problemas econômicos e socioambientais de difícil solução (DEMIRBAS, 2006; KUCEK, 2004).

Atualmente, a maior parte do biodiesel produzido no mundo deriva do óleo de soja, no entanto, fatores como a geografia, o clima e a economia determinam o óleo vegetal de maior interesse para uso potencial nos biocombustíveis. Os óleos de origem vegetal ou animal são substâncias pertencentes à classe química dos lipídeos, em que sua estrutura é constituída por uma mistura de diferentes compostos químicos, tendo o triacilglicerídeo, os ácidos graxos livres e os fosfatídeos como os mais importantes (GARCIA, 2006; REDA & CARNEIRO, 2007).

Os ácidos graxos, constituintes dos triacilglicerídeos, estão diretamente relacionados com as propriedades físicas e químicas dos óleos vegetais. Os mesmos são ácidos orgânicos lineares que se diferem de acordo com o comprimento e o número de duplas ligações da cadeia carbônica. Os ácidos graxos sem duplas ligações são conhecidos como saturados, e os que possuem duplas ligações em sua cadeia são chamados de insaturados (apresentam apenas uma dupla ligação) ou poli-insaturados (possuem mais de uma dupla ligação em sua cadeia carbônica) (FIGUEIREDO, 2009; STREITWIESER et al., 1998; REDA & CARNEIRO, 2007). Além dos triacilglicerídeos, os óleos vegetais apresentam em sua composição quantidades apreciáveis de ácidos graxos livres, fosfolipídios, esteróis e tocoferóis.

Diante de toda diversidade de oleaginosas promissoras para a produção do biodiesel existentes no Brasil, é preciso que se tenham avaliações perante as suas reais potencialidades tecnológicas, econômicas, agrícolas, levando em consideração as características da regionalização, como sazonalidade e escala periódica, características físicas e químicas, por exemplo, teor de óleo no grão ou amêndoa, composição, e outros (RAMOS et al., 2003). Com isso, a escolha da matéria-prima para a produção do biocombustível é de grande importância, uma vez que se levam em conta, o custo, as propriedades de armazenamento e o seu desempenho como combustível (DUARTE, 2009).

A soja é uma das culturas que mais cresceu nos últimos 32 anos, chegando a uma produção de 189,2 milhões de toneladas por ano. Atualmente, é a única oleaginosa com escala produtiva suficiente para produzir de imediato biodiesel, pois, cerca de 90% da produção brasileira de óleo é derivado dessa matéria-prima (CANDEIA, 2008; FREITAS, 2004), no entanto, tem crescido a busca por alternativas à soja, em virtude do uso da mesma para consumo da população.

1.2.2. Gordura animal

A gordura animal representa uma fonte de biomassa bastante utilizada como matéria-prima para produção de biodiesel. Este material graxo é um resíduo industrial que pode ser reaproveitado e utilizado para produção de energia. O biodiesel originado desse material residual apresenta propriedades comparáveis às do diesel, exceto pela sua alta viscosidade (HASS et. al., 2001; KUMAR et al., 2006; CONCEIÇÃO et al., 2007).

Dentre as gorduras animais que estão sendo utilizadas para obtenção de ésteres alquílicos, as mais utilizadas são o sebo bovino, gordura de frango, banha de porco e óleo de peixe. Estas gorduras são de fácil obtenção e apresentam um custo relativamente barato como subprodutos em indústrias alimentícias (LEBEDEVAS et al., 2006; GOODRUM et al., 2003; WYATT et al., 2005).

A produção de biodiesel a partir de gordura animal proporciona uma grande vantagem ambiental evitando a disposição inadequada de resíduos animais, que na maioria dos casos não recebem nenhum tipo de tratamento e acabam chegando nos rios e córregos provocando inúmeros problemas ao meio ambiente (LANG et al., 2001; ALCANTARA et al., 2000; CONCEIÇÃO et al., 2007).

A gordura animal difere de alguns óleos vegetais como o de soja e o de canola, com respeito as suas propriedades químicas. Estes óleos vegetais apresentam em sua composição

uma grande quantidade de ácidos graxos insaturados, entretanto nas gorduras animais, como o sebo, ocorre ao contrário, apresentam uma quantidade maior de ácidos graxos saturados (MA et al., 1998; LEBEDEVAS et al., 2006).

A presença da grande concentração de compostos saturados influencia diretamente na estabilidade à oxidação. O tempo de estabilidade à oxidação aumenta com o aumento de compostos saturados no biodiesel como o obtido por gordura animal.

1.2.3. Produção de Biodiesel e Blendas

O biodiesel produzido a partir de diferentes óleos tem sido estudado para melhorar as propriedades deste biocombustível bem como reutilizar matérias-primas que poderiam ser descartadas no meio ambiente. A grande diversidade de matérias-primas que podem ser utilizadas na síntese do biodiesel é um diferencial para a produção. Por exemplo, na Europa a síntese do biodiesel é realizada, em grande parte, a partir do óleo de canola, nos Estados Unidos é obtida através do óleo de soja e de canola (OKADA, 2008). No Brasil, de acordo com a Figura 1, a principal matéria-prima é o óleo de soja, e em segundo vem a gordura bovina.

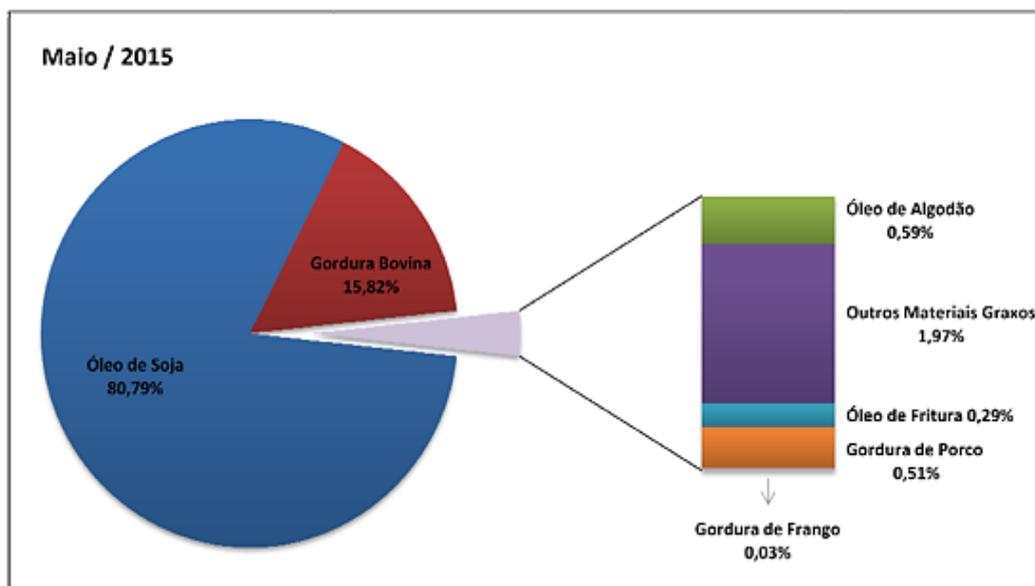


Figura 1. Matérias-primas utilizadas para produção de biodiesel - Perfil Nacional (maio de 2015).

Fonte: ANP (2015).

A conversão da matéria graxa em biodiesel é realizada por reações químicas e as mais utilizadas são as reações de esterificação e transesterificação.

A reação de transesterificação, ou alcoólise, é a reação de três mols de um álcool com um mol de triglicérido para formar três mols de éster (Figura 2).

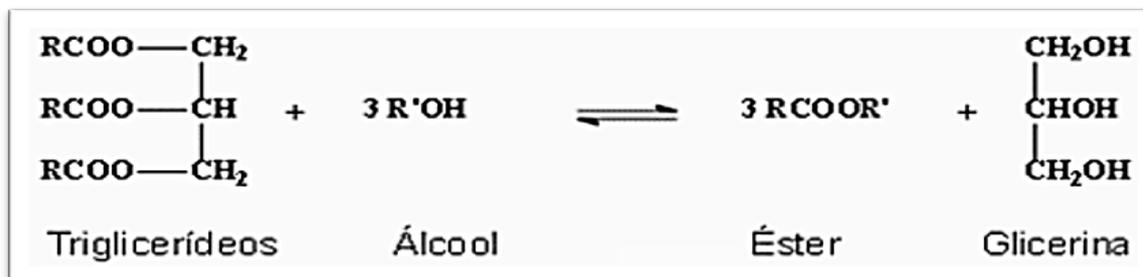


Figura 2. Reação de Transesterificação.
Fonte: Souza & Lima (2015).

Devido à reversibilidade da reação, é adicionada uma quantidade maior de álcool, o que desloca o equilíbrio da reação para a formação de produtos, conforme o princípio de Le Chatelier e a presença do catalisador possibilita a conversão do triglicérido em biodiesel com menor tempo de reação (SKOOG et al., 2009).

Para matérias-primas com alta quantidade de ácidos graxos livres (AGL) é necessária a realização de um pré-tratamento, a reação de esterificação, que transforma os ácidos graxos livres em ésteres (biodiesel). Esta reação quando processada em temperatura ambiente é lenta, mas pode ser acelerada com o emprego de aquecimento e/ou catalisador (Figura 3). Como exemplo de catalisador, pode-se citar o ácido sulfúrico (H₂SO₄). Após a redução da quantidade de ácidos graxos livres no meio, faz-se então a reação de transesterificação.

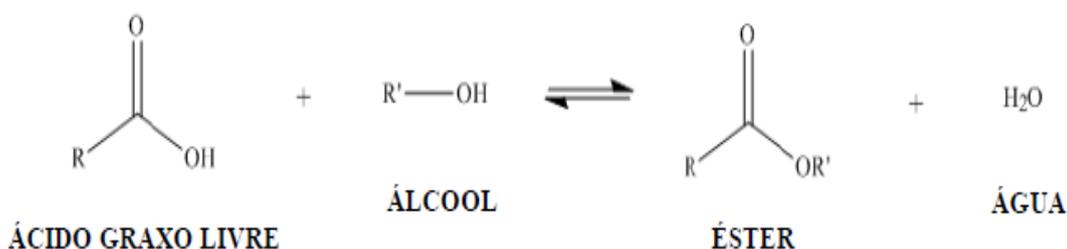


Figura 3: Reação de esterificação.
Fonte: Souza & Lima (2015).

Sendo a estabilidade à oxidação um parâmetro importante para o controle da qualidade do biodiesel, o processo de degradação oxidativa deste depende da natureza dos

ácidos graxos usados na sua produção, do grau de insaturação dos ésteres que o compõe, assim como a umidade, temperatura e absorção de luz (FERRARI & SOUZA, 2009).

Assim, a instabilidade oxidativa do biodiesel é devida ao fato deste ter um alto teor de ésteres insaturados, podendo estes ser facilmente oxidados, nomeadamente o linoleato de metilo (C18:2) e o linolenato de metilo (C18:3). Esta instabilidade é um obstáculo à aceitação do biodiesel pelos fabricantes de motores, assim como ao aumento do mercado para esse combustível (DINKOV et al., 2009).

Portanto, a estabilidade oxidativa depende da concentração dos ésteres alquílicos linolêicos e linolênicos, o que leva à utilização cada vez maior de misturas de diferentes matérias-primas na produção do biodiesel. Dependendo da composição química, essas misturas podem aumentar a estabilidade oxidativa do biodiesel ou diminuí-la, bem como alterar valores de acidez e/ou iodo (ZULETA et al., 2012; McCORMICK & WESTBROOK, 2010; CHRISTENSEN & McCORMICK, 2014).

Park et al. (2008), estudaram o efeito da composição de ácidos graxos sobre a estabilidade oxidativa do biodiesel. Para tanto, foram preparadas misturas de biodiesel de palma, canola e óleo de soja em diferentes proporções e a estabilidade oxidativa foi avaliada através do Rancimat. Verificou-se que a estabilidade oxidativa das misturas diminui quando o teor total de ácidos linoleico e linolênico aumentam. Com base nisso, alguns autores propuseram a mistura de diferentes biodieseis como estratégia para melhorar a estabilidade oxidativa.

1.2.4. Composição Química dos Ácidos Graxos - Influência no Biodiesel

Os ácidos graxos classificam-se como: saturados, monoinsaturados e poli-insaturados. Os saturados mais abundantes são o ácido láurico (C-12:0), o ácido palmítico (C-16:0) e o ácido esteárico (C-18:0). Quanto aos monoinsaturados mais importantes pode-se citar o ácido oléico (C-18:1) e o ácido erúico (C-22:1). Em relação aos poli-insaturados tem-se o ácido linolêico (C-18:2) e o ácido linolênico (C-18:3).

A oxidação do biodiesel advém de sucessivas reações radicalares, as quais acontecem nas insaturações dos ésteres de ácidos graxos, em contato com o oxigênio atmosférico, sendo acelerada pela presença de íons metálicos, luz, temperatura, radiação ionizante e outros agentes oxidantes, de modo a formar peróxidos e, conseqüentemente, outros produtos do processo oxidativo (FERRARI & SOUZA, 2009).

Os ácidos graxos saturados são mais estáveis ao processo oxidativo, pois a formação de radicais livres é energeticamente desfavorável. A instabilidade nos óleos e/ou biodiesel é causada, principalmente, pela existência de ácidos graxos insaturados (o ácido oléico, linoléico e linolênico) (ZULETA, 2012).

O mecanismo de oxidação de ésteres de ácidos graxos poli-insaturados pode ser pensado como tendo três fases, que são representadas graficamente na Figura 4. A fase 1 é o período de indução ou fase de atraso, em que o consumo de oxigênio ocorre lentamente. Compostos antioxidantes são esgotados durante esta fase, mas a composição química do combustível ainda não é significativamente impactada. Os radicais livres se formam, mas eles reagem principalmente com antioxidantes (se presente), em vez do próprio biodiesel. O período de tempo em que o combustível permanecerá nesta fase é mantido pela quantidade de espécies reativas presentes e concentração de antioxidantes, bem como fatores ambientais como disponibilidade de oxigênio e calor. A fase 2 é a fase exponencial da peroxidação, na qual o consumo de oxigênio e a formação de peróxidos aumentam rapidamente. O antioxidante é consumido iniciando a reação de oxigênio com o combustível. Finalmente, na fase 3, a taxa de degradação de peróxido é superior à sua taxa de formação. Durante esta fase, há um aumento exponencial na produção de ácidos e outros produtos de degradação e a qualidade do combustível é fortemente impactada (CHRISTENSEN & McCORMICK, 2014).

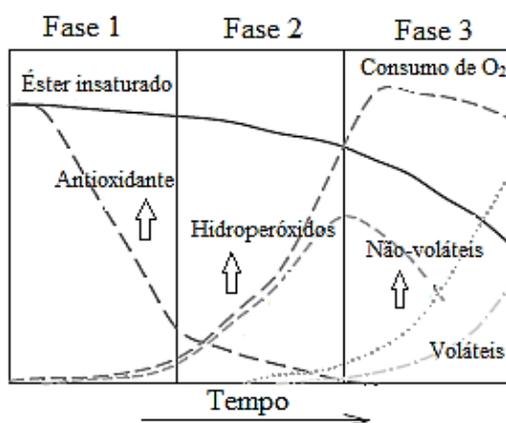


Figura 4. Representação gráfica das fases de oxidação de ésteres de ácidos graxos.

Fonte: Adaptado de Christensen & McCormick (2014, p. 340).

Portanto, a qualidade do biodiesel armazenado depende da composição química dos óleos utilizados em sua produção. Um exemplo disso é o biodiesel de óleo de soja, que apresenta quantidade significativa de ácidos graxos insaturados, que facilitam a oxidação do biodiesel.

1.3. Técnicas Utilizadas na Caracterização de Biodiesel

1.3.1. Espectroscopia de Absorção no UV-Vis

A espectroscopia de absorção molecular nas regiões espectrais do ultravioleta (200-400 nm) e do visível (400-800 nm) é largamente utilizada para a determinação quantitativa de um grande número de espécies inorgânicas, orgânicas e biológicas (HOLLER et al., 2009). Nesta região espectral os fótons (luz) possuem energia suficiente para provocar transições eletrônicas. Isso possibilita a identificação e determinação de diversas substâncias, em solução, que absorvem radiação nesta região do espectro. De maneira geral, quando as moléculas absorvem radiação, elas passam do estado de energia fundamental para o estado excitado. Quando voltam ao estado fundamental emitem parte da energia absorvida na forma de radiação e parte, na forma de calor (CHIMENEZ, 2011; SCHERER, 2011; HOLLER et al., 2009).

A espectroscopia de absorção no UV-Vis é baseada na lei de Beer-Lambert, que define que a fração da energia absorvida pela amostra ($I(\lambda)$), depende da intensidade de radiação incidente ($I_0(\lambda)$), do coeficiente de absorção (α) e do caminho óptico (L) percorrido pela radiação. Assim, temos a seguinte relação (HOLLER et al., 2009):

$$\frac{I(\lambda)}{I_0(\lambda)} = e^{-\alpha L}$$

Em termos de absorbância (A), temos:

$$A = \log \left(\frac{I_0(\lambda)}{I(\lambda)} \right) = \alpha L (0,434)$$

Assim, esta técnica de análise foi utilizada para determinar os espectros de absorção molecular das amostras de biodiesel comercial ausente de antioxidante, com antioxidante sintético e com antioxidante natural. Os espectros foram obtidos no intervalo de comprimento de onda do ultravioleta entre 200 e 400 nm, a fim de monitorar a formação de produtos secundários originados do processo oxidativo do biodiesel.

1.3.2. Cromatografia Gasosa

A cromatografia gasosa é uma técnica utilizada para analisar, identificar ou separar os componentes de uma mistura, sendo definida como a separação de dois ou mais compostos diferentes por distribuição entre fases, uma das quais é estacionária (FE) e outra móvel (FM).

A fase estacionária pode ser sólida ou líquida e sua função é reter substâncias por sorção, possibilitando a retenção cromatográfica, responsável pela separação de analitos presentes em uma mistura. Na fase estacionária líquida, o material é depositado sobre a superfície de um sólido poroso inerte (coluna empacotada) ou de tubo fino de material inerte (coluna capilar). A fase móvel é um fluído destinado a mobilizar analitos, sem interagir com os mesmos, através de uma fase estacionária em processo cromatográfico e técnicas afins. Pode ser um líquido (designado como solvente), gás ou fluído supercrítico. A natureza da fase móvel é o que define o tipo de cromatografia utilizada (SKOOG, 2009)

No processo cromatográfico em geral, o gás de arraste entra no cromatógrafo e passa pelo injetor, que deve estar aquecido de modo a promover a rápida vaporização da amostra, que chega à coluna arrastando consigo o aerossol da amostra. Depois de separados na coluna, os componentes atravessam o detector e o sinal é enviado na forma de cromatograma (SKOOG, 2009).

O tipo de detector utilizado é de suma importância para se ter uma análise confiável e aceitável. Estes devem possuir alta sensibilidade, baixo nível de ruído, largo intervalo de linearidade, alta estabilidade e boa repetibilidade. Os detectores podem ser divididos em universal, que respondem a maioria das amostras; seletivo, que responde a uma característica do soluto, e específico que responde a um único tipo de amostra.

As análises para o biodiesel são realizadas de acordo com a norma EN 14103 por cromatografia gasosa CG-FID. O FID (detector de ionização de chama) é universal e seu princípio é o de que o efluente da coluna, misturado com o hidrogênio seja queimado ao ar, produzindo uma chama que tem energia suficiente para ionizar as moléculas do soluto que tenham potenciais de ionização baixos, formando um plasma. As espécies iônicas assim produzidas são coletadas por eletrodos e a corrente (iônica) elétrica resultante é amplificada e enviada para o sistema de registro mesmo (PEREIRA, 2007; SOUZA et al., 2013).

A qualificação e quantificação dos ésteres e demais compostos que compõem uma amostra é um dos parâmetros de controle de qualidade dos biocombustíveis. Devido as suas características funcionais, a CG é a mais eficiente técnica de análise para biodiesel porque

identifica, com precisão, seus componentes, inclusive os de menor concentração como os mono-, di- e trigliceróis, o teor de glicerina livre e total, os contaminantes, entre outros. Sendo possível determinar o percentual de conversão da reação de transesterificação (PEREIRA, 2007; SOUZA et al., 2013; FARIA, 2013).

1.4. Especificações do Biodiesel

Sabe-se que biodiesel pode ser produzido das mais variadas fontes oleaginosas, gorduras animais ou residuais, e que essas fontes possuem origem e características físico-químicas diversificadas. Com isso, faz-se necessário uma padronização do controle de qualidade para esse biocombustível, a fim de garantir o bom desempenho do motor a diesel. Vale ressaltar também, que após a reação de transesterificação, forma-se o éster, em que o mesmo passa a ser definido como biodiesel somente quando está totalmente purificado e adequado às normas específicas para a comercialização (CARVALHO-JÚNIOR, 2010).

Logo, a padronização é um pré-requisito para que o biodiesel seja comercializado. Dessa maneira, países como: a Alemanha (primeiro país no mundo a definir e aprovar os padrões do biodiesel proveniente do óleo de canola), Itália, França, Áustria, República Tcheca e os Estados Unidos estabeleceram padrões e diretrizes para a qualidade do biodiesel (KUCEK, 2004; GARCIA, 2006; FERRARI et al, 2005, SCHERER, 2011; CHIMENEZ, 2011).

No Brasil, o biodiesel deve atender à especificação estabelecida pela Resolução nº 07/2008 da ANP, enquanto que nos Estados Unidos, vale a norma ASTM D6751 da *American Society for Testing and Materials* (ASTM) e na Europa, a norma EN 14214 do *European Committee for Standardization* (CEN). Os parâmetros de qualidade do biodiesel podem ser divididos em dois principais grupos, que são: os parâmetros gerais, que correspondem às características físico-químicas (índice de cetano, ponto de fulgor, viscosidade, estabilidade oxidativa (método Rancimat), índice de acidez, índice de peróxido e outros) e o outro grupo que descreve a composição química e a pureza dos ésteres alquílicos (glicerina livre e total, índice de iodo, quantidade de mono-, di-, e triacilglicerídeos etc.). É importante referir que os valores limites das diferentes propriedades não são os mesmos para todos os países, isto se deve essencialmente a dois fatores, o clima que existe em cada país e as matérias-primas utilizadas (KNOTHE, 2001; KNOTHE, 2006; MOSER, 2009).

1.5. Antioxidantes

Na tentativa de controlar os processos oxidativos, inibir ou retardar a oxidação lipídica (BORSATO, 2010), destaca-se o uso de antioxidantes, substâncias ou misturas de substâncias químicas adicionadas que agem impedindo a etapa inicial de auto-oxidação e a formação de radicais livres, removendo-os do meio (RIOS, 2004).

Antioxidantes como TBHQ (terc-butil-hidroquinona), BHT (3,5-di-t-butil-4-hidroxitolueno), ascorbil palmitato, BHA (2 e 3-tbutil-4-metil-metoxifenol), propil galato (PG), tocoferóis e flavonóides são os mais conhecidos por retardarem a oxidação e seus efeitos na viscosidade, índice de acidez e índice de peróxido do biocombustível (LEONARDO, 2012).

Dentre os antioxidantes primários sintéticos, o TBHQ (Figura 5), é um dos mais estudados em virtude do seu efeito retardador da oxidação do biodiesel. Vários autores como Tang et al. (2010); Liang et al. (2006); Knothe (2007), encontraram melhores resultados no controle do processo oxidativo, em relação a outros antioxidantes sintéticos.

Além dos antioxidantes sintéticos existem também os antioxidantes naturais, como os tocoferóis, ácidos fenólicos e extratos de plantas como cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* (L.)), em que é extraído o Eugenol. Este, assim como o TBHQ é um antioxidante primário, porém, ainda são poucos os estudos sobre seu uso em biodiesel. O mecanismo de ação dos antioxidantes primários consiste no fornecimento de um sítio adicional do grupo hidroxila para a captura de radicais livres (WANASUNDARA & SHAHIDI, 2005).

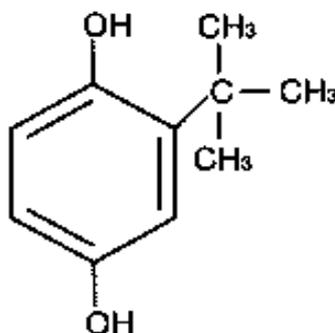


Figura 5. Estrutura química do TBHQ.
Fonte: Souza & Lima (2015).

Segundo Rial (2014) a preocupação com o caráter não renovável dos antioxidantes sintéticos tem levado pesquisadores a buscarem antioxidantes que apresentassem bom desempenho e que pudessem ser obtidos de fontes naturais renováveis. Os antioxidantes

naturais podem ser extraídos facilmente de raízes, cascas, folhas, frutos, sementes, dentre outras, sendo consideradas excelentes fontes, muitas com alto potencial antioxidante (CORDEIRO, 2013). As vantagens dos antioxidantes naturais em relação aos sintéticos é que por serem substâncias naturais, são praticamente inócuas e menos tóxicas (ALVES, 2015) e a sua utilização apresenta menor impacto ambiental (CORGOZINHO, 2010).

O Eugenol (Figura 6) é o principal constituinte do óleo de cravo-da-índia. Esse óleo pode ser obtido das folhas, cascas e dos botões de flores secas. Alguns estudos tem mostrado ação efetiva em atividades antitumoral, antibiótico, antifúngico, antiparasitário, inseticida, analgésico, anestésico e até antidiabético (AFFONSO et al., 2012).

Estudo de Rodrigues Filho (2010) avaliou a ação dos antioxidantes naturais cardanol e eugenol hidrogenados, extraído da castanha do caju e do cravo-da-índia, respectivamente, em biodiesel de algodão, quanto à estabilidade oxidativa, e compararam sua eficiência ao antioxidante sintético BHT. O estudo mostrou eficácia da atividade antioxidante na seguinte ordem: eugenol hidrogenado > cardanol hidrogenado > BHT, mostrando resultados satisfatórios dos antioxidantes naturais frente ao antioxidante sintético BHT. Apesar de inúmeras pesquisas relatando a potencialidade dos antioxidantes naturais em inibir e/ou retardar a oxidação em alimentos, cosméticos e fármacos, poucos estudos foram realizados com biodiesel (RIAL, 2014).

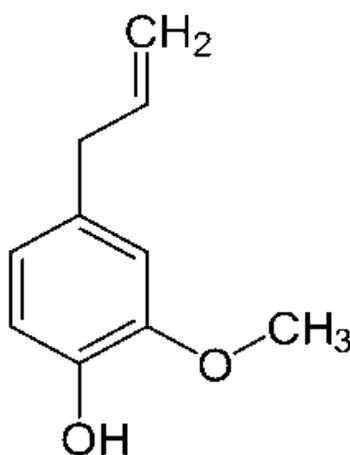


Figura 6. Estrutura química do Eugenol.
Fonte: Souza & Lima (2015).

Os antioxidantes primários TBHQ e Eugenol, devido a sua natureza química, quebram a cadeia de reação da oxidação quando doam um hidrogênio a um radical livre, assumindo a forma de radical estável (WANASUNDARA & SHAHIDI, 2005). Conforme

mecanismo de ação proposto por Zuleta (2012) e exemplificado na Figura 7, o átomo de hidrogênio ativo do antioxidante (AH) é capturado pelos radicais livres (LOO• e L•) com maior facilidade do que os hidrogênios alílicos das moléculas insaturadas. Por possuir maior afinidade com os radicais peróxidos, formam espécies inativas mais estáveis (A• - radical inerte), inibindo, assim, a etapa de iniciação ou interrompendo a etapa de propagação da auto-oxidação.

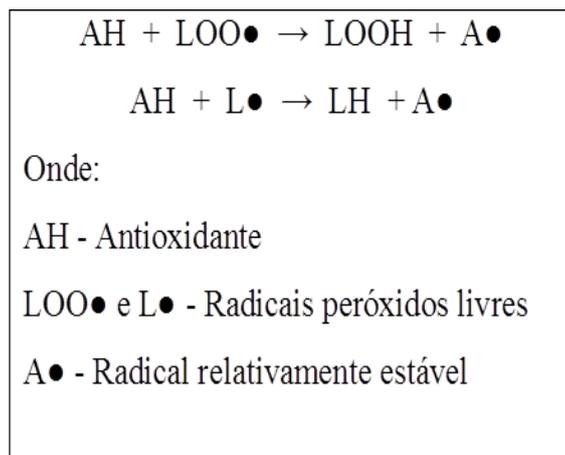


Figura 7. Mecanismo de ação dos antioxidantes primários.
Fonte: Zuleta et al. (2012).

1.6. Técnicas de Avaliação da Oxidação do Biodiesel

Testes como os que analisam os valores de acidez, peróxido, iodo e estabilidade à oxidação (método Rancimat), avaliam as substâncias formadas durante a degradação do biodiesel (produtos primários ou secundários de oxidação). Estes testes nos fornecem o quanto oxidado está o biodiesel.

1.6.1. Índice de Acidez

O índice de acidez (IA) revela o estado de conservação do biodiesel, e é definido como a massa em miligrama de hidróxido de potássio necessário para neutralizar os ésteres de ácidos graxos livres de 1g de amostra. Portanto, quanto maior o valor de acidez no biodiesel, mais oxidado estará o mesmo. A ANP estabelece limite máximo de acidez no valor de (IA ≤ 0,50 mg KOH g⁻¹).

1.6.2. Índice de Peróxido

O índice de peróxido (IP), mede o teor de peróxidos em óleo, gordura, biodiesel ou outra substância já oxidada. Os resultados são definidos em miliequivalentes por quilograma de amostra (meq kg^{-1}).

O IP não é adotado como norma padrão pela ANP, esta somente solicita a sua anotação para enviar ao consumidor. Quanto maior o valor de peróxidos no biodiesel, mais avançado estará o processo oxidativo.

1.6.3. Índice de Iodo

O índice de iodo (IO) é uma medida da quantidade de ácidos graxos insaturados em óleos e/ou biodiesel, sendo expresso em gramas de iodo que reagem com as insaturações em 100 g de amostra. Logo, a alteração do valor de iodo é resultado de processos oxidativos durante estocagem. A ANP não estabelece limites máximos para o IO, mas a norma europeia EN 14111 estabelece o máximo de $120\text{g I}_2 100\text{ g}^{-1}$.

1.6.4. Estabilidade Oxidativa

Para se avaliar a estabilidade oxidativa do biodiesel, o método Rancimat é o mais utilizado, sendo considerada uma metodologia padrão, segundo a norma EN 14112, que integra o regulamento técnico da ANP.

Segundo Knothe (2005), este parâmetro é influenciado pela composição e propriedades físico-químicas das matérias-primas do qual foi originado o biodiesel, o que inclui a quantidade e posições de ligações insaturadas, originalmente presente nas moléculas de triglicerídeos (ácidos graxos). Consequentemente, a utilização de matérias-primas de diferentes origens, bem como o emprego de vários processos de produção, interfere na composição e na estabilidade do biodiesel.

A oxidação é um fenômeno espontâneo que pode ser desencadeado por diversos fatores. Analisando as referências disponíveis na literatura (BONDIOLI et al., 2002; MCCORMICK et al., 2007; LIN & CHIU, 2009; GELLER et al., 2008; PARK et al., 2008; KNOTHE & DUNN, 2003), pode-se concluir que os principais fatores que aceleram o processo de degradação do biodiesel são a exposição ao ar, à luz, à umidade, ao calor ou a ambientes contaminados com metais.

O teste Rancimat (Figura 8) é considerado um sistema de análise simples e seguro. Durante a medição da estabilidade oxidativa uma corrente de ar passa através da amostra

contida num vaso de reação selado, sob aquecimento. A oxidação das moléculas de ácidos graxos (no caso dos óleos e gorduras) ou de ésteres (no caso do biodiesel) ocorre devido à ação do ar e do calor. A mesma resulta na formação de peróxidos como produtos de oxidação primários levando à formação de ácidos orgânicos voláteis de baixa massa molecular como produtos de oxidação secundários. Estes são transportados pela corrente de ar para um segundo recipiente contendo água destilada e deionizada, cuja condutividade é registrada continuamente.

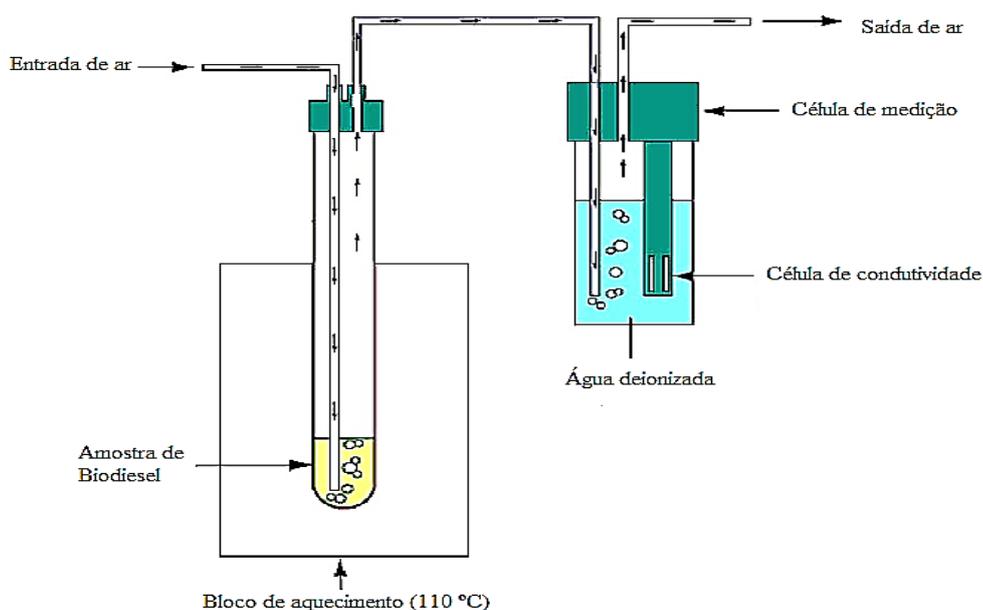


Figura 8. Esquema do ensaio utilizado para a medida da estabilidade oxidativa (método Rancimat).
Fonte: Metrohm (2015).

A formação de ácidos orgânicos pode ser detectada pelo aumento da condutividade da água. O tempo que decorre até que estes produtos de reação secundários atinjam o nível máximo é conhecido como período de indução (PI). A resolução nº 45 da ANP estabelece valor mínimo de PI de 8 h, já a americana ASTM D6751 e europeia EN 14112 estabelecem o mínimo de 3 h e 6 h, respectivamente.

1.7.Referências bibliográficas

AFFONSO, R. S.; RENNÓ, M. N.; SLANA, G. B. C. A.; FRANÇA, T. C. C. Aspectos Químicos e Biológicos do Óleo Essencial de Cravo da Índia. **Revista Virtual de Química**. Niterói-RJ, v. 4, n. 2, p. 146-161, 2012.

ALCANTARA, R.; AMORES, J.; CANOIRA, L.; FIDALGO, E.; FRANCO, M. J.; NAVARRO, A. Catalytic production of biodiesel from soy-bean oil, used frying oil and tallow. **Biomass and Bioenergy**, Aberdeen, v. 18, n. 6, p. 515-527, 2000.

ALVES, C. T. **Transesterificação de Óleos e Gorduras Residuais via rotas metálica e etélica utilizando o catalisador Aluminato de Zinco, em presença ou não de CO₂ supercrítico**. 2012. 213p. Tese (Doutorado em Engenharia Industrial) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Industrial-PEI, Universidade Federal da Bahia, Salvador-BA, 2012.

ALVES, S. M. **Um importante aliado chamado antioxidante**. Revista Graxaria Brasileira, São Paulo-SP, v. 8, n. 44, p. 46-49, 2015. Disponível em:<http://www.mflip.com.br/pub/stilo/?numero=44&edicao=8833#page/47>>. Acesso em: 10 dez. 2016.

_____. ANP. Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. **Qualidade**. Rio de Janeiro, 2015. [Online]. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/wwwanp/rodada-legislacao/qualidade>>. Acesso 15 jul. 2015.

BONDIOLI, P.; GASPAROLI, A.; BELLA, L. D.; TAGLIABUE, S. Evaluation of biodiesel storage stability using reference methods. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v. 104, n. 2, p. 777-784, 2002.

BONDIOLI, P.; GASPAROLI, A.; BELLA, L. D.; TAGLIABUE, S.; LACOSTE, F.; LAGARDERE, L. Biodiesel stability under comercial storage conditions over one year. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v. 105, n. 12, p. 735-741, 2003.

BONDIOLI, P.; GASPAROLI, A.; BELLA, L. D.; TAGLIABUE, S.; LACOSTE, F.; LAGARDERE, L. The prediction of biodiesel storage stability. Proposal for a quick test. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v. 106, n. 12, p. 822-830, 2004.

BORSATO, D.; DALL`ANTONIA, L. H.; GUEDES, C. L. B.; MAIA, E. C. R.; FREITAS, HS. R.; MOREIRA, I.; SPACINO, K. R. Aplicação do delineamento simplex-centroide no estudo da cinética da oxidação de biodiesel B100 em misturas com antioxidantes sintéticos. **Química Nova**, São Paulo-SP, v. 33, n. 8, p. 1726-1731, 2010.

CANDEIA, R. A. **Biodiesel de soja: síntese, degradação e misturas binárias**. 2008, 132p. Tese (Doutorado em Química orgânica) - Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa-PB, 2008.

CARVALHO-JÚNIOR, R. M. **Desenvolvimento e Análise Energética do Processo de Obtenção do Biodiesel de Microalga por Metanólise *in situ***. 2010. 85p. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba-PR, 2010.

CHIMENEZ, T. A. **Espectroscopia de Fluorescência como Ferramenta para Caracterização de Biodiesel e Monitoramento de Processos de Degradação**. 2011. 61p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) - Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados-MS, 2011.

CHRISTENSEN, E.; MCCORMICK, R. L. Long-term storage stability of biodiesel and biodiesel blends. **Fuel Processing Technology**, 128, 339-348, 2014.

CHRISTOFF, P. **Produção de Biodiesel a partir de Óleo Residual de Fritura Comercial. Estudo de caso: Guaratuba, Litoral Paranaense**. 2006, 66p. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento de Tecnologias) - Instituto de Tecnologia para o Desenvolvimento (LACTEC), Instituto de Engenharia do Paraná, Curitiba-PR, 2006.

CONCEIÇÃO, M. M.; CANDEIA, R. A.; SILVA, F. C.; BEZERRA, A. F.; FERNANDES, J.; SOUZA, A. G.; Thermoanalytical characterization of castor oil biodiesel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. Golden, v. 11, n. 5, p. 964-975, 2007.

CORDEIRO, A. M. T. M. **Desenvolvimento de bioaditivos antioxidantes para otimização da estabilidade oxidativa de óleos comestíveis**. 2013. 131p. Tese (Doutorado em Química e Bioquímica de Alimentos) – Departamento de Química e Bioquímica de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, 2013.

CORGOZINHO, C. **Antioxidantes naturais são eficazes na conservação do biodiesel, aponta estudo**. Belo Horizonte - MG. 2010. [online]. Disponível em: <<https://www.ufmg.br/online/arquivos/017571.shtml>>. Acesso em: 15 out. 2016.

DEMIRBAS, A. Biodiesel production via non-catalytic SCF method and biodiesel fuel characteristics. **Energy Conversion and Management**, Belton, v. 47, n. 15-16, p. 2271–2282, 2006.

DINKOV, R.; HRISTOV, G.; STRATIEV, D.; ALDAYRI, V. B. Effect of commercially available antioxidants over biodiesel/diesel blends stability. **Fuel**, London, v. 88, n. 4, p. 732-737, 2009.

DUARTE, A. O peso da matéria prima. **Revista Biodieselbr**, Curitiba-PR, v. 9, p. 19, 2009. Disponível em: <<https://www.biodieselbr.com/revista/009/o-peso-da-materia-prima.htm>>. Acesso em: 15 out. 2016.

FARIA, F. R. D. **Desenvolvimento de metodologias analíticas alternativas por cromatografia gasosa para análise de biodiesel**. 2013. 91p. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Petróleo) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal-RN, 2013.

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

FERRARI, R. A.; OLIVEIRA, V. S.; SCABIO, A. Biodiesel de soja: taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia. **Química Nova**, São Paulo-SP, v. 28, n.1, p. 19-23, 2005.

FIGUEIREDO, M. S. **Estudo das propriedades ópticas e termo-ópticas do biodiesel e suas misturas**. 2009. 93p. Dissertação (Mestrado em Física Aplicada) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande-MS, 2009.

FREITAS, S. M. Biodiesel à base de óleo de soja é a melhor alternativa para o Brasil? **Informações Econômicas**, São Paulo-SP, v. 34, n. 1, p. 86-89, 2004.

GARCIA, C. M. **Transesterificação de óleos vegetais**. 2006. 120p. Dissertação (Mestrado em Química Inorgânica) - Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas-SP, 2006.

GELLER, D. P.; ADAMS, T. T.; GOODRUM, J. W.; PENDERGRASS, J. Storage stability of poultry fat and diesel fuel mixtures: Specific gravity and viscosity, **Fuel**, Georgia, v. 87, n. 1, p. 92–102, 2008.

GOMES, M. M. R. **Produção de Biodiesel a partir da Esterificação dos Ácidos Graxos Obtidos por Hidrólise de Óleo de Peixe**. 2009. 76f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro-RJ, 2009.

GOODRUM, J. W.; GELLER, D. P.; ADAMS, T. T. Rheological Characterization of Animal Fats and Their Mixtures with Fuel Oil. **Biomass and Bioenergy**, Aberdeen, v. 24, n. 3, 249-256, 2003.

HAAS, M. J.; SCOTT, K. M.; ALLEMAN, T. L.; MCCORMICK, R. L. Engine performance of biodiesel fuel prepared from soybean soapstock: A high quality renewable fuel produced from a waste feedstock. **Energy Fuels**, Newark, v. 15, n. 5, 1207-1212, 2001.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de Análise Instrumental**. 6. ed. Porto Alegre-RS: Bookman, 2009. 1056 p.

KNOTHE, G. Some aspects of biodiesel oxidative stability. **Fuel Processing Technology**, Perth, v. 88, n. 7, p. 669-677, 2007.

KNOTHE, G. Analytical Methods Used in the Production and Fuel Quality Assessment of Biodiesel. **American Society of Agricultural Engineers**, St. Joseph, v. 44, n. 2, p. 193–200, 2001.

KNOTHE, G. Analyzing Biodiesel: Standards and Other Methods. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Peoria, v. 83, n. 10, p. 823-833, 2006.

KNOTHE, G. Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. **Fuel Processing Technology**, Perth, v. 86, n. 10, p.1059-1070, 2005.

KNOTHE G.; DUNN, R. O. Dependence of Oil Stability Index of Fatty Compounds on Their Structure and Concentration and Presence of Metals, **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Peoria, v. 80, n. 10, p. 1021-1026, 2003.

KUCEK, K. T. **Otimização da Transesterificação Etilica do Óleo de Soja em Meio Alcalino**. 2004. 107p. Dissertação (Mestrado em Química orgânica) - Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba-PR, 2004.

KUMAR, M.S.; KERIHUEL, A.; BELLETTRE, J.; TAZEROUT, M. Ethanol animal fat emulsions as a diesel engine fuel – Part 2: Engine test analysis. **Fuel**, London, v. 85, n. 17-18, p. 2646-2652, 2006.

LANG, S.; DALAI, A. K.; BAKHSHI, N. N.; REANEY, M. J.; HERTZ, P. B. Preparation and characterization of bio-diesels from various bio-oils. **Bioresource technology**. London, v. 80, n. 1, p. 53-62, 2001.

LEBEDEVAS, S.; VAICEKAUSKAS, A.; LEBEDEVA, G.; MAKAREVICIENE, V.; JANULIS, P.; KAZANCEV, K. Use of waste fats of animal and vegetable origin for the production of biodiesel fuel: quality, motor properties, and emissions of harmful components. **Energy Fuels**, Newark, v. 20, n. 5, p. 2274-2280, 2006.

LEONARDO, R. S. **Estudo da estabilidade de biodiesel com misturas de antioxidantes por um método de P-DSC de baixa pressão**. 2012. 132f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro-RJ, 2012.

LIANG, Y. F.; MAY, C. Y.; FOON, C. S.; NGAN, M. A.; HSOCK, C. C.; BARISON, Y. The effect of natural and Synthetic antioxidants on the oxidative stability of palm diesel. **Fuel**, London, v. 85, n. 5, p. 867-870, 2006.

LIN, C. Y.; CHIU, C. C. Effects of Oxidation during Long-term Storage on the Fuel Properties of Palm Oil-based Biodiesel. **Energy & Fuels**, Hong Kong, v. 23, n. 6, p. 3285–3289, 2009.

MA, F.; CLEMENTS, L. D.; HANNA, M. A. Biodiesel Fuel from Animal Fat. Ancillary Studies on Transesterification of Beef Tallow. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, Lincoln, v. 37, n. 9, p. 3768-3771, 1998.

MCCORMICK, R. L.; RATCLIFF, M.; MOENS, L.; LAWRENCE R. Several factors affecting the stability of biodiesel in standard accelerated tests. **Fuel Processing Technology**, Perth, v. 88, n. 7, p. 651–657, 2007.

MCCORMICK, R. L.; WESTBROOK, S. R., Storage Stability of Biodiesel and Biodiesel Blends. **Energy & Fuels**, Newark, v. 24, n. 6, p.690-698, 2010.

METHORM. **Analysis of edible oils and fats**. Application Bulletin 141/4. Herisau: Methorm, 2015. 17 p.

MOSER, B. R. Biodiesel production, properties, and feedstocks. **In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant**, Chesterfield, v. 45, n. 3, p. 229–266, 2009.

OKADA, S. I. **Análise dos pontos críticos de sucesso na cadeia produtiva do biodiesel no Centro-Oeste brasileiro: um subsídio à gestão estratégica**. 2008. 139p. Dissertação (Mestrado em Agronegócio) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO, 2008.

PARK, J. Y.; KIM, D. K.; LEE, J. P.; PARK, S. C.; KIM, Y. J.; LEE, J. S. Blending effects of biodiesels on oxidation stability and low temperature flow properties. **Bioresource Technology**, London, v. 99, n. 5, p. 1196–1203, 2008.

PEREIRA, F. E. A. **Biodiesel produzido a partir do óleo de sementes de *Mabea fistulifera* Mart**. 2007. 87p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2007.

RAMOS, L. P.; KUCEK, K. T.; DOMINGOS, A. K.; WILHELM, H. M. Biodiesel: Um projeto de sustentabilidade econômica e socioambiental para o Brasil. **Revista Biotecnologia & Desenvolvimento**, Brasília-DF, [s. v.], n. 31, p. 28-37. 2003.

RAMOS, M. J.; CASAS, A.; RODRIGUEZ, L.; ROMERO, R.; PEREZ, A. Transesterification of sunflower oil over zeolites using different metal loading: A case of leaching and agglomeration studies. **Applied Catalysis A: General**, Illinois, v. 346, n. 1-2, p. 79–85, 2007.

REDA, S. Y.; CARNEIRO, P. I. B. Óleos e gorduras: aplicações e implicações. **Revista Analytica**, São Paulo, [s. v.], n. 27, p. 60-67, 2007.

RIAL, R. C. **Avaliação da ação do extrato de gengibre em biodiesel de soja: comparação com antioxidantes comerciais**. 2014. 99p. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande-MS, 2014.

RIOS, M. A. F. **Síntese de um Antioxidante Fosforado a partir do Cardanol Hidrogenado**. Dissertação. 2004. [s. f.]. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, 2004.

RODRIGUES FILHO, M. G. **Cardanol e Eugenol Modificados: uso como antioxidante no controle do processo oxidativo do biodiesel de Algodão**. 2010. 121p. Tese (Doutorado em Química Analítica) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, 2010.

SCHERER, M. D. **Caracterização óptica do diesel, biodiesel, óleo e suas misturas: Desenvolvimento de uma metodologia alternativa para a quantificação do teor de biodiesel na mistura diesel/biodiesel**. 2011. 87p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados-MS, 2011.

SCHUCHARDT, U.; SERCHELI, R.; VARGAS, R. M. Transesterification of vegetable oils: a review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Campinas-SP, v. 9, n. 1, p. 199-210, 1998.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Princípios de Análise Instrumental**. 6 ed. Porto Alegre - RS: Bookman, 2009. 1056 p.

SOUZA, L. C. DE; ROCHA, E. D.; ROCHA, C. P. Análises de óleos vegetais e óleo residual bruto por cromatografia gasosa visando à produção do biodiesel. **Revista Científica UNIFOR-MG**, Formiga-MG, v. 8, n. 2, p. 85–91, 2013.

SOUZA, T. R.; LIMA, S. M. Caracterização espectroscópica de biodiesel de girassol e bociúva misturados com óleo. In: Encontro de Iniciação Científica, 7, 2015, Dourados-MS. **Anais...** Dourados-MS: ENIC, 2015. p. 1-1.

STREITWIESER, A.; HEATHCOCK, C. H.; KOSOWER, E. M. **Introduction to Organic Chemistry**. 4. ed. New York: Macmillan, 1998. 1256 p.

TAN, C. P.; CHE MAN, Y. B.; SELAMAT, J.; YUSOFF, M. S. A. Comparative studies of oxidative stability of edible oils by differential scanning calorimetry and oxidative stability index methods. **Food Chemistry**, Malaysia, v. 76, n. 3, p. 385–389, 2002.

TANG, H. S. GUZMAN, R. C.; SIMONNG, K. Y.; SALLEY, S. O. Effect of Antioxidants on the Storage Stability of Soybean-Oil-Based Biodiesel. **Energy Fuels**, Newark, v. 24, n. 3, p. 2028-2033, 2010.

WANASUNDARA, P. K. J. P. D.; SHAHIDI, F. Antioxidants: Science, Technology, and Applications. In: SHAHIDI, F. (Ed.) Bailey's Industrial Oil and Fat Products. **Edible Oil and Fat Products: Chemistry, Properties and Health Effects**. 6. ed. Vol. 1, cap. 11, New Jersey: Wiley–Blackwell, hoboken, 2005. p. 431-489.

WYATT, V. T.; HESS, M. A.; DUNN, R. O.; FOGLIA, T. A.; HAAS, M. J.; MARMER, W. N. Fuel properties and nitrogen oxide emission levels of biodiesel produced from animal fats. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Peoria, v. 82, n. 8, p. 585-591, 2005.

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**, São Paulo-SP, v. 23, n. 12, p. 2159-2175, 2012.

CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIOXIDANTE DO EUGENOL E DO TBHQ EM BIODIESEL COMERCIAL DURANTE PERÍODO DE ESTOCAGEM.

RESUMO

O uso de antioxidantes, principalmente o antioxidante sintético TBHQ, tem sido uma forma eficiente de manter, por maior tempo, a estabilidade oxidativa de biodiesel durante a estocagem. Sendo assim, este trabalho teve por objetivo avaliar a ação antioxidante do Eugenol (natural) e do TBHQ, em biodiesel produzido a partir de blenda composta por óleo de soja e gordura animal. Para tanto, foram preparadas amostras de biodiesel comercial ausente de antioxidante, aditivadas com Eugenol e aditivadas com TBHQ. As amostras foram estocadas em estufa à temperatura constante de 43 °C, durante 150 dias e, periodicamente, caracterizadas por espectroscopia UV, estabilidade à oxidação (método Rancimat) e por determinações dos índices de acidez (IA), de peróxido (IP) e de iodo (IO). Os resultados apontaram maior eficiência do Eugenol, em relação ao TBHQ, em manter os parâmetros físico-químicos das amostras dentro dos padrões estabelecidos pela legislação, principalmente o índice de acidez.

PALAVRAS-CHAVE: Biodiesel, Antioxidante natural, Rancimat.

ABSTRACT

The use of antioxidants, especially the synthetic antioxidant TBHQ, has been an efficient way of maintaining the oxidative stability of biodiesel during storage for a longer time. Therefore, the objective of this work was to evaluate the antioxidant action of Eugenol (natural) and TBHQ, in biodiesel produced from a blend composed of soybean oil and animal fat. For this, samples of commercial biodiesel lacking antioxidant, Eugenol additive and TBHQ additives were prepared. The samples were stored in an oven at constant temperature of 43 °C for 150 days and periodically characterized by UV spectroscopy, oxidation stability (Rancimat method) and determination of acidity (IA), peroxide (IP) and Iodine (IO). The results showed higher efficiency of Eugenol, in relation to TBHQ, in maintaining the physico-chemical parameters of the samples within the standards established by the legislation, mainly the acidity index.

KEY-WORDS: Biodiesel, Antioxidants, Oxidation.

2.1. Introdução

O emprego do biodiesel como alternativa ao diesel fóssil vem crescendo aceleradamente no mundo inteiro (SRISVASTAVA & PRASAD, 2000). Entretanto, com o aumento da demanda, crescente atenção vem sendo dada aos efeitos causados pela sua oxidação. Ao longo da estocagem, o biodiesel sofre reações que acarretam alterações nas suas propriedades físico-químicas.

O biodiesel é mais suscetível à degradação que o diesel de petróleo, o que leva à necessidade da adição de antioxidantes (BORSATO et al., 2010).

De acordo com o mecanismo de ação, os antioxidantes são classificados em primários, secundários, sinergistas, removedores de oxigênio, biológicos, agentes quelantes e antioxidantes mistos (RAMALHO & JORGE, 2006).

Dentre os antioxidantes sintéticos ou naturais que são empregados, o antioxidante sintético terc-butil-hidroquinona (TBHQ) é um dos mais utilizados e estudados. Vários autores verificaram melhores resultados para TBHQ, quando comparado a outros antioxidantes (TANG et al., 2010; LIANG et al., 2006; KNOTHE, 2007).

Além dos antioxidantes sintéticos existem também os antioxidantes naturais, como os tocoferóis, ácidos fenólicos e extratos de plantas como o Eugenol extraído do cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* (L.)). Este, assim como o TBHQ, é um antioxidante primário bastante eficiente, porém, são poucos os estudos sobre seu uso em biodiesel. Esses dois antioxidantes agem na etapa inicial do processo de auto-oxidação impedindo a formação de radicais livres os quais propagam o processo oxidativo.

Sendo assim, este trabalho tem como principal objetivo avaliar a ação antioxidante do Eugenol (natural) e do TBHQ (sintético) em biodiesel comercial produzido a partir de blenda composta por óleo de soja e gordura animal, durante período de estocagem.

2.2. Material e métodos

Materiais

Neste trabalho foram utilizadas dois biodieseis comerciais, um doado pela empresa Delta Biocombustíveis, situada em Rio Brillhante/MS e outro doado pela empresa Biocar: óleos vegetais e química, Dourados/MS (BORF). O biodiesel da empresa Delta (BC) foi produzido a partir de uma blenda composta de óleo de soja (50%) e gordura animal (50%), o biodiesel doado pela Biocar (BORF) foi produzido a partir de óleo residual de fritura. Os dois biodieseis foram produzidos por reação de transesterificação metílica (álcool metílico, grau de pureza 99,8%), catalisada com hidróxido de sódio (grau de pureza 97%), ambos da Sigma-Aldrich.

Os antioxidantes utilizados foram: Eugenol (Biodinâmica, pureza 99% m m⁻¹), vitamina E e óleo de semente de uva (OSU) adquiridos em farmácia de manipulação; Foram escolhidos esses conservantes por serem de fontes naturais renováveis e de baixo valor agregado. Já o TBHQ foi adquirido da Sigma-Aldrich, pureza 97% (m m⁻¹). Para a análise

espectroscópica de absorção (UV), a diluição da amostra de biodiesel foi feita em Diclorometano, também da Sigma-Aldrich (pureza 99,5%).

Métodos

Avaliação da estabilidade oxidativa pelo método Rancimat

A determinação dos valores do período de indução (PI) foi realizada em triplicata, no equipamento Analisador de Estabilidade Oxidativa Metrohm, modelo 893 Professional Rancimat, de acordo com a norma europeia EN 14112, adotada pela ANP.

O método Rancimat baseia-se na avaliação da oxidação do biodiesel, que resulta na formação de peróxidos como produtos de oxidação primários levando à formação de ácidos orgânicos voláteis de baixa massa molecular como produtos de oxidação secundários. Quando estes produtos de reação secundários atingem o nível máximo, é determinado o PI.

Utilizando pipeta graduada, pesou-se em um tubo de reação, 3 g da mistura de biodiesel aditivado com antioxidante, em balança analítica. O tubo de reação com a amostra foi colocado no bloco de aquecimento do equipamento Rancimat. As amostras foram analisadas sob fluxo de ar constante de 10 L h^{-1} , a $110 \text{ }^\circ\text{C}$ e seus respectivos produtos voláteis foram coletados em um tubo contendo 50 ml de água destilada e o PI foi determinado pelo software StabNet, usando método de segunda derivada.

Os tubos e conexões do aparelho foram rigorosamente limpos entre cada série de medidas com o detergente específico Extran™, e posteriormente enxaguados com álcool etílico e água destilada. Secou-se o material limpo em estufa a $55 \text{ }^\circ\text{C}$, conforme orientações do fabricante (METROHM, 2015).

Testes para verificação do antioxidante natural mais eficiente e de concentrações a serem utilizadas.

O biodiesel comercial BC apresentou PI acima do estabelecido pela ANP (8 horas), mesmo sem a adição de antioxidantes. Sendo assim, para a avaliação da ação antioxidante e da concentração adequada dos diferentes conservantes naturais avaliados (Eugenol, OSU, e vitamina E), optou-se por realizar os testes no biodiesel BORF, isto porque o mesmo estava com PI médio de 3,46 h, o que facilitou a avaliação dos mesmos.

Os valores de PI para as amostras de biodiesel puro, com os antioxidantes naturais e o TBHQ, foram avaliados através do método Rancimat em diferentes concentrações (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Valores de período de indução dos antioxidantes naturais testados em diferentes concentrações em amostras de biodiesel BORG

Antioxidante	Concentração mg kg ⁻¹ PI (horas)					
	500	1.000	5.000	10.000	15.000	20.000
Vitamina E	3,46 ± 0,01	3,49 ± 0,05	3,42 ± 0,05	3,49 ± 0,01	3,44 ± 0,02	3,44 ± 0,01
Eugenol	3,89 ± 0,01	4,09 ± 0,01	4,90 ± 0,02	5,62 ± 0,02	6,55 ± 0,05	6,52 ± 0,04
OSU	3,44 ± 0,02	3,60 ± 0,02	3,43 ± 0,03	3,60 ± 0,05	3,70 ± 0,02	3,66 ± 0,04

Médias e desvio padrão. Valor do PI da amostra ausente de antioxidante: 3,46.

A partir desses testes de estabilidade oxidativa, escolheu-se o antioxidante Eugenol para o estudo de estocagem em biodiesel comercial produzido a partir de blenda, no entanto, antes de estocá-lo, foram testadas as melhores concentrações, de 15.000 e 20.000 mg kg⁻¹, pois os mesmos apresentaram os melhores valores de PI (Tabela 1). Para o TBHQ optou-se por testar as concentrações de 25, 50 e 100 mg kg⁻¹, pois se objetivou valores de PI de TBHQ próximos aos encontrados para o Eugenol para avaliá-los durante a estocagem.

Tabela 2. Valores de PI para amostras de biodiesel comercial produzido a partir de blenda, ausente de antioxidantes e adicionados os antioxidantes Eugenol e TBHQ em diferentes concentrações.

Antioxidante	Concentração (mg kg ⁻¹)	PI (horas)
Ausente	0	10,42 ± 0,03
Eugenol	15.000	11,40 ± 0,13
	20.000	11,39 ± 0,13
TBHQ	25	12,29 ± 0,05
	50	15,57 ± 0,14
	100	21,93 ± 0,13

Médias e desvio padrão.

Condições de estocagem e análises

Para o estudo de estocagem foi utilizado o biodiesel comercial BC. Fez-se a previsão de 150 dias de estocagem para as amostras, com análises imediatas ao preparo e mensalmente. Para tanto, foram utilizados 5 frascos âmbar de 300 mL cada, para cada tratamento, totalizando 15 frascos: BC puro (ausente); BC com Eugenol (Eugenol na concentração de 15.000 mg kg⁻¹) e BC com TBHQ (TBHQ na concentração de 25 mg kg⁻¹).

Os frascos com as amostras foram devidamente protegidos da luz com papel alumínio e armazenados em estufa mantidos a 43 ± 1 °C, conforme norma ASTM D4625 que estabelece o método de ensaio acelerado para oxidação de diesel e biodiesel. Todas as análises foram feitas em triplicatas e mensalmente até completar os 150 dias previstos.

Durante a estocagem, foram retiradas periodicamente (a cada 30 dias), alíquotas de cada amostra para análises de índice de acidez (método ASTM D664); Índice de peróxido (EN ISO 27107); Índice de iodo (IO) (método EN ISO 3961). Todos os parâmetros físico-químicos foram determinados com o titulador potenciométrico Titrino Plus 848/Metrohm.

Caracterização por Cromatografia Gasosa

A quantificação dos principais ésteres de ácidos graxos foi feita por CG-FID conforme norma EN 14103/2003, no equipamento Shsimadzu CG2014, equipado com uma coluna capilar Stabilwax (30 m; 0,25 mm; 0,25 μ m). Para determinação dos tempos de retenção dos ésteres foi utilizado o padrão Supelco 37 (FAME mix).

O gás de arraste utilizado foi o hélio em uma vazão de 1,5 mL.min⁻¹ e o volume de injeção da amostra foi de 1,0 μ L, com razão *split* de 1:50. As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas a 250 °C, temperatura da fonte de íons 250 °C e a temperatura de interface 250 °C. As análises foram realizadas com o detector no modo *scan*, a técnica de ionização foi por impacto de elétrons (EI) a 70 eV, faixa de massa analisada de 40-450 Da. A temperatura inicial do forno foi de 60 °C (isoterma 2 min), até 200 °C (isoterma 10 min) com razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹, após atingiu-se a temperatura final de 240 °C (isoterma 7 min.), com razão de aquecimento de 5 °C.min⁻¹, totalizando uma corrida cromatográfica de 30 minutos. A identificação foi realizada através da comparação do espectro de massas dos compostos com a espectroteca Nist08 baseado no índice de similaridade, e comparação dos tempos de retenção dos picos com uma mistura padrão de ésteres metílicos de ácidos graxos adquiridos da Sigma Aldrich.

Para o cálculo da porcentagem de éster foi utilizado a equação a seguir, baseada na norma EN14103/2003:

$$C = \frac{[(\sum A) - A_{ei} \times C_{ei} \times V_{ei} \times 100\%]}{A_{ei} \times m}$$

em que: ΣA : (soma das áreas dos picos de C₆ a C₂₄); Aei: (área do heptadecanoato de metila); Cei: (concentração em mg/mL de heptadecanoato de metila); Vei: (volume em mL de heptadecanoato de metila); m: (massa em mg da amostra).

Espectroscopia de absorção no UV

As medidas por UV foram realizadas para se monitorar a formação de produtos secundários originados do processo oxidativo do biodiesel.

As amostras de biodiesel ausente de antioxidante e aditivadas com Eugenol e TBHQ foram analisadas num espectrofotômetro Hitachi, modelo U-3000, com a varredura dos espectros entre 200 nm e 400 nm, em cubetas de quartzo de 1 cm de caminho óptico. As amostras foram diluídas em diclorometano, na proporção 10 µl de amostra para 4000 µl de solvente.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, aplicando-se o Teste de Tukey com nível de significância de 95%, no programa Assistat 7.7 beta, 2016.

2.4. Resultados e Discussão

Caracterizações físico-químicas realizadas durante o tempo de estocagem

Índice de Acidez - Ao adicionar o Eugenol, observou-se um decréscimo no valor de acidez, de 0,41 foi para 0,29 mg KOH g⁻¹. Em virtude deste decréscimo, da primeira medida para a última (150 dias), houve um aumento de 21,62% no valor de IA para a amostra com Eugenol. Nas amostras ausente de antioxidante e com TBHQ, houve um aumento de 10,86% e 17,07%, respectivamente. Com 150 dias de estocagem, o valor de IA para o BC (ausente) foi o mais elevado (0,46 ± 0,02), chegando quase ao limite do valor estipulado pela ANP (IA ≤ 0,50 mg KOH g⁻¹). Os valores de acidez para as amostras com Eugenol e TBHQ foram aumentando gradativamente durante o tempo de estocagem, mas o BC com Eugenol se manteve mais estável se comparado com as outras amostras (Figura 1 e Tabela 4). Apesar de todas as amostras atenderem à norma ANP, o Eugenol manteve durante os 150 dias de estocagem, os menores valores de acidez.

Esses valores podem ser comparados aos encontrados por Christensen & McCormick (2014) em seus estudos com biodiesel de óleo de soja onde se avaliou a acidez e período de indução. As amostras também foram estocadas em estufa a 43 °C, e com quatro semanas de estocagem o PI baixou de 7,8 h para 3,0 h, e a acidez de 0,40 mg KOH g⁻¹ alcançou o valor

de 0,80 mg KOH g⁻¹. Segundo Leung et al. (2006), quanto mais oxidado e/ou degradado estiver o biodiesel, maior será o valor de acidez.

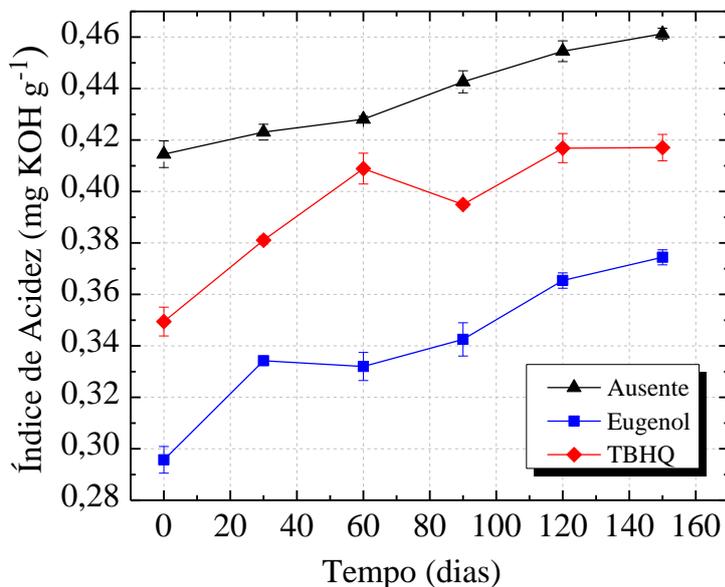


Figura 1. Valores de IA para todos os tratamentos em função do tempo de estocagem.

Os resultados encontrados por estes autores também indicam o quanto a composição química do biodiesel e a mistura de matérias-primas para a produção deste influenciam na estabilidade oxidativa. De acordo com Pinzi et al. (2009), a taxa de oxidação do biodiesel é mais influenciada pela composição química de seus ésteres alquílicos do que pelas condições ambientais (temperatura, ar, luz e presença de metais). Moser (2008) avaliou propriedades químicas como valor de acidez e valor de iodo em amostras de biodiesel de óleo de soja e de biodiesel produzido a partir de blendas de óleo de soja, óleo de palma e óleo de girassol. O mesmo observou melhores valores de acidez e iodo ao misturar matérias-primas, principalmente o óleo de palma, que apresenta quantidade elevada de ácidos graxos saturados.

Índice de Iodo

O valor limite de IO não é normatizado pela ANP, esta requer apenas que a medida seja relatada ao consumidor. A norma europeia EN 14111 estipula valor máximo de 120g I₂ 100 g⁻¹, sendo utilizada como referência neste trabalho. O IO está relacionado com o número

total de insaturações presentes nos ésteres do biodiesel. Quanto maior o número de insaturações, mais susceptível ao processo oxidativo estará o biodiesel.

A redução do IO no início da estocagem (Figura 2), está ligada à oxidação do biodiesel, que consiste em uma série complexa de reações químicas caracterizadas por um decréscimo no conteúdo total de ésteres graxos insaturados devido à eliminação de hidrogênio adjacente à uma ligação dupla e a formação de radicais livres (BOUAID et al., 2007), ou seja, assim que as amostras foram submetidas ao teste em estufa, as duplas ligações dos ésteres graxos insaturados são quebradas, originando os radicais livres, sendo estes, também associados ao aumento da acidez.

Estudos realizados por Inanç & Maskan (2014) em amostras de biodiesel de óleos vegetais que ficaram estocados por 30 meses, expostos à luz e no escuro, relacionou a diminuição nos valores de IO no início da estocagem à queda na quantidade de insaturações, consequentemente, oxidação das amostras.

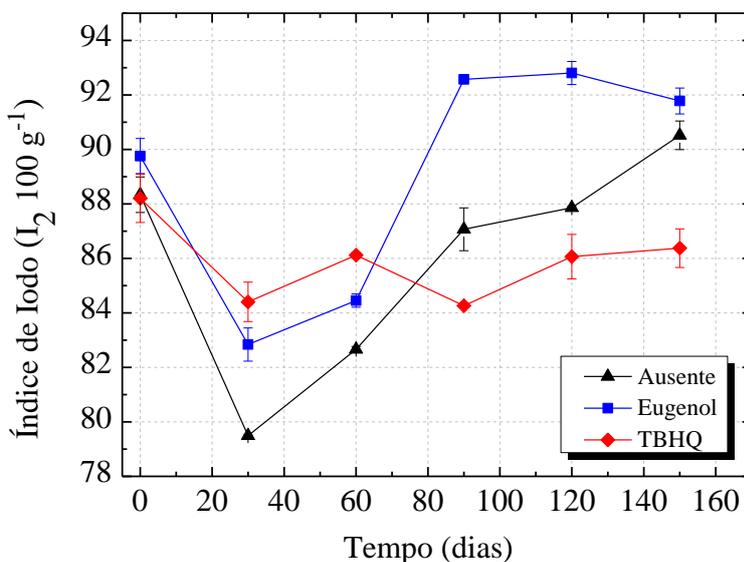


Figura 2. Valores de IO para os três tratamentos, em função do tempo de estocagem.

Segundo Christensen & McCormick (2014), o mecanismo de oxidação de ésteres de ácidos graxos poli-insaturados pode ser pensado como tendo três fases. A fase 1 é o período de indução em que o consumo de oxigênio ocorre lentamente e os compostos antioxidantes são esgotados. Os radicais livres se formam, mas eles reagem principalmente com antioxidantes (se presente). A fase 2 é a fase exponencial da peroxidação, na qual o consumo

de oxigênio e a formação de peróxidos aumentam rapidamente. O antioxidante é consumido iniciando a reação do oxigênio com o biocombustível. Finalmente, na fase 3, a taxa de degradação de peróxido é superior à sua taxa de formação. Durante esta fase, há um aumento exponencial na produção de ácidos e outros produtos de degradação e a qualidade do combustível é fortemente impactada.

Pela descrição dos autores e com base nos dados da Figura 2, as amostras se encontram no fim da fase 2, onde ocorre aumento rápido no consumo de oxigênio e formação de peróxidos. Após 30 dias, os valores de IO para os três tratamentos aumentam, indicando a formação gradativa de produtos derivados do processo oxidativo, como os dienos conjugados que possuem duplas ligações. Com 90 dias nota-se uma pequena redução na formação de dienos, sendo a maior queda observada na amostra com o Eugenol a partir de 120 dias de estocagem. Esse resultado indica que o Eugenol ainda está presente no biodiesel fornecendo hidrogênios disponíveis em sua estrutura, aos radicais livres formados no início do processo oxidativo.

Da primeira para a última análise (150 dias), houve aumento de 1,69% no valor de iodo para a amostra ausente de antioxidante, seguido por 1,74% para a amostra com Eugenol e 2,07% para a amostra com TBHQ.

A composição de ésteres de ácidos graxos saturados no BC somaram 25,94% e de ésteres insaturados 70,76%. Quanto maior a quantidade de ésteres insaturados, mais suscetível ao processo oxidativo está o biodiesel. Apesar de ser alta a porcentagem de ésteres insaturados, a quantidade de ésteres graxos saturados confere estabilidade por maior período de tempo (Tabela 3).

Park et al. (2008) estudaram o efeito da composição de ácidos graxos sobre a estabilidade oxidativa do biodiesel. Para tanto, foram preparadas misturas de biodiesel de palma, canola e óleo de soja em diferentes proporções e a estabilidade oxidativa foi avaliada através do método Rancimat. Verificou-se que a estabilidade oxidativa das misturas diminui quando o teor total de ácidos linoléico e linolênico aumentam. Com base nisso, alguns autores propuseram a mistura de diferentes biodieseis como estratégia para melhorar a estabilidade oxidativa.

Tabela 3. Composição dos principais ésteres de ácidos graxos no Biodiesel

Biodiesel BC (50% óleo de soja – 50% gordura animal)			Valores referenciados na literatura para biodiesel de óleo de soja puro (CANDEIA, 2008)
Ésteres Graxos Saturados	Nº Carbono	Concentração (%)	Concentração (%)
Mirístico	C14:0	0,9733	0,2 (máx.)
Palmítico	C16:0	15,8769	9,9 – 12,2
Esteárico	C18:00	8,6072	3 – 5,4
Láurico	C12:0	0,1133	0,1 (máx.)
Araquídico	C20:0	0,3167	0,2 – 0,5
Behsênico	C22:0	0,0231	0,3 – 0,7
Lignocérico	C24:0	0,0309	0,4 (máx.)
Ésteres Graxos Insaturados	Nº Carbono	Concentração (%)	Concentração (%)
Palmitoléico	C16:1	1,1911	Traços 0,2
Oléico	C18:1	31,1766	17,7 – 26
Linoléico	C18:2	34,4318	49,7 – 56,9
Linolênico	C18:3	3,9664	5,5 – 9,5
Total		96,7073%	

Índice de Peróxido

Observa-se na Figura 3, que durante o tempo em que as amostras ficaram estocadas, houve um aumento no número de peróxido decorrente principalmente ao aumento no índice de acidez. Isso ocorre porque os ésteres foram oxidados, primeiramente, originando os peróxidos que por sua vez, submetem os aldeídos a reações que os oxidam em ácidos (ZULETA et al., 2012). Apesar do índice de peróxido não ser especificado nos padrões atuais para biocombustíveis, este parâmetro é fundamental nas análises referentes à qualidade do biodiesel (ZULETA et al., 2012; BOUAID et al., 2007).

Não houve diferença significativa entre os tratamentos no tempo 0, mas a partir de 30 dias de estocagem, os valores para a amostra BC com Eugenol foram os mais significativos. Com 150 dias, a amostra BC (ausente) teve o valor mais significativo ($4,28 \pm 0,03$). Da primeira medida (tempo 0) para a última (150 dias), na amostra BC (ausente), houve um aumento de 80,60% no valor de IP, seguido por 73,37% para a amostra com Eugenol e 72,23% para a amostra com TBHQ.

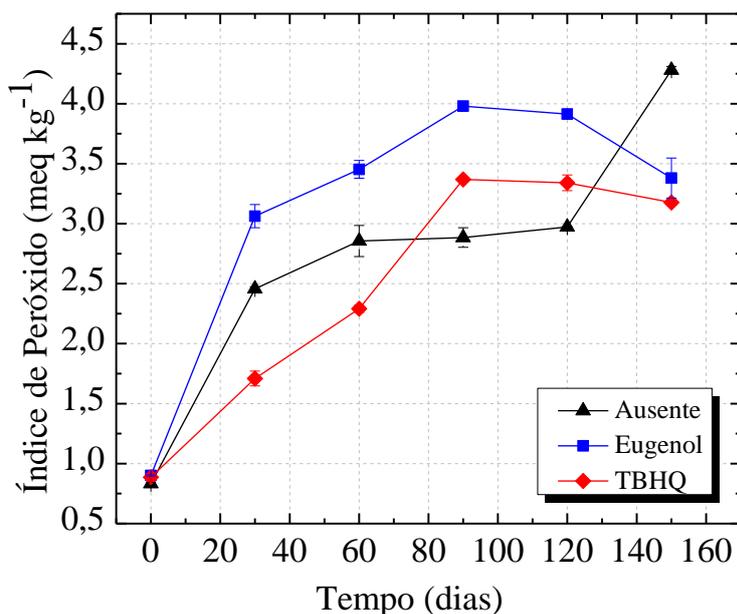


Figura 3. Valores de IP para os três tratamentos, em função do tempo de estocagem.

Mittelbach & Gangl (2001) descrevem que o valor de peróxido de biodiesel produzido a partir de óleo de canola e óleo vegetal residual aumentam com o tempo de estocagem, especialmente em amostras expostas ao ar e à luz onde o índice de peróxido ultrapassou o valor de 3,00 meq kg⁻¹ após 200 dias de estocagem. Bouaid et al. (2007) avaliaram a estabilidade oxidativa durante estocagem de biodiesel produzido a partir de óleo de girassol e óleo vegetal usado durante 30 meses e verificaram que as amostras expostas à luz do dia e no escuro, apresentou aumento no valor do peróxido ao longo do tempo, com aumento mais acentuado após os seis meses.

Avaliação da Estabilidade oxidativa

O BC (ausente) atendeu à norma exigida pela (ANP), pois apresentou PI de 10,48 h, no entanto, pode sofrer degradação oxidativa durante o período de estocagem e ter seu valor de PI alterado. Os valores de PI estão apresentados na Tabela 5.

A amostra de BC com TBHQ apresentou os maiores valores de PI até 60 dias de estocagem, entretanto observa-se que a partir de 90 dias o valor do PI para a amostra com Eugenol se mantêm com valores mais altos de PI em relação à amostra de BC com TBHQ e BC (ausente) até completarem 150 dias. Este resultado sugere maior eficiência do Eugenol, durante o tempo de estocagem, com relação ao PI. Verifica-se também influência dos dois

antioxidantes no controle do PI, já que o PI da amostra BC (ausente) apresentou o menor valor com 150 dias, $7,60 \pm 0,06$, abaixo das 8,0 h estabelecidas pela ANP.

A estabilidade observada no PI das amostras, inclusive o BC (ausente) que se manteve acima das 8,0 h até 120 dias de estocagem, também está relacionada com a composição química do biodiesel. O período de indução diminui com o aumento da porcentagem de ácidos graxos insaturados, como no caso do biodiesel produzido somente de óleo de soja, cujo teor de ácidos graxos insaturados é maior (SHAHABUDDIN et al., 2012). Christensen & McCormick (2014) avaliaram a estabilidade oxidativa de amostras de biodiesel comercial produzido somente de óleo de soja. Ao estocá-las a temperatura constante de 43 °C, o PI que estava 3 h após 9 semanas baixou para 1 h.

Trabalho realizado por Cini et al. (2013) com biodiesel formado por 90% óleo de soja e 10% gordura animal, apresentou período de indução de 1,42 h para a amostra ausente de antioxidante. Este valor indica que quando adicionado maior quantidade de gordura animal na produção de biodiesel, aumenta-se o período de indução.

Os melhores valores de PI apresentados pela amostra com o Eugenol (Figura 4), são justificados pelo estudo realizado por Pereira & Maia (2007) com o extrato bruto e óleo essencial de alfavaca.

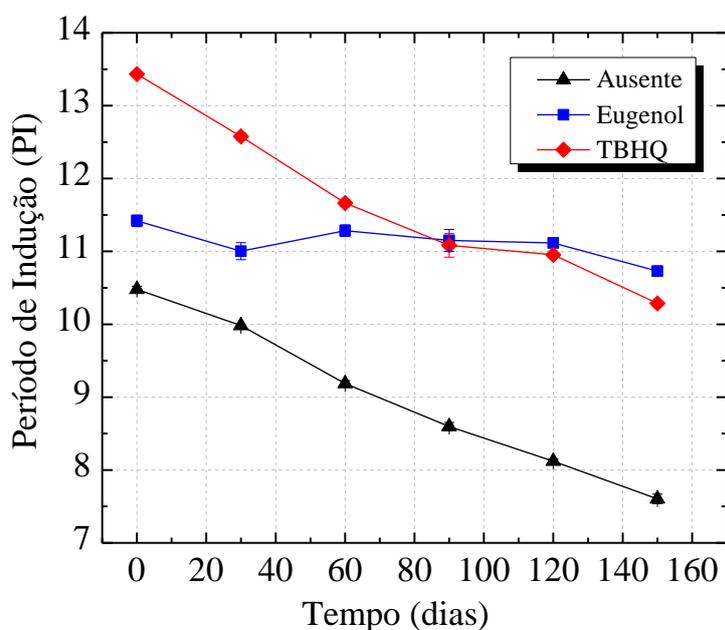


Figura 4. Valores de PI para os três tratamentos em função do tempo de estocagem.

Os autores identificaram através de análise cromatográfica teor de Eugenol nas folhas de alfavaca em torno de 53,90% e ao submetê-lo à avaliação da atividade antioxidante, o Eugenol apresentou atividade de inibição da oxidação lipídica de 92,44%. Depois de 72 h de teste, quando o controle apresentava o ácido linoléico completamente oxidado, o Eugenol ainda inibia quase inteiramente a oxidação. Esses resultados deixam claro o potencial antioxidante do Eugenol.

A amostra BC com Eugenol teve redução de 6,04% no valor de PI (tempo 0 até 150 dias). Já as amostras BC (ausente) e BC com TBHQ, tiveram redução de 27,48% e 23,45%, respectivamente.

Tabela 4. Valores de acidez para as amostras de BC ausente, aditivadas com Eugenol e aditivadas com TBHQ.

Antioxidante (mg kg ⁻¹)	Tempo (dias) IA					
	0	30	60	90	120	150
Ausente (0)	0,41 ± 0,05 ^{aD}	0,42 ± 0,03 ^{aCD}	0,42 ± 0,01 ^{aC}	0,44 ± 0,04 ^{aB}	0,45 ± 0,04 ^{aA}	0,46 ± 0,02 ^{aA}
Eugenol (15.000)	0,29 ± 0,05 ^{cD}	0,33 ± 0,01 ^{cBC}	0,33 ± 0,05 ^{cC}	0,34 ± 0,06 ^{cB}	0,36 ± 0,02 ^{cA}	0,37 ± 0,02 ^{cA}
TBHQ (25)	0,34 ± 0,05 ^{bD}	0,38 ± 0,01 ^{bC}	0,40 ± 0,06 ^{bA}	0,39 ± 0,01 ^{bB}	0,41 ± 0,05 ^{bA}	0,41 ± 0,05 ^{bA}

ANP n° 45 de 25/08/2014: 0,50 mg KOH g⁻¹.

Médias e desvio padrão seguidas por letras minúsculas iguais nas colunas, não diferem entre si. Letras maiúsculas iguais nas linhas não diferem entre si. Teste de Tukey, p < 0,05 e R² = 0.9832.

Tabela 5. Valores de iodo para as amostras de BC ausente, aditivadas com Eugenol e aditivadas com TBHQ.

Antioxidante (mg kg ⁻¹)	Tempo (dias) IO (g I ₂ 100 g ⁻¹)					
	0	30	60	90	120	150
Ausente (0)	88,33 ± 0,65 ^{aA}	79,49 ± 0,02 ^{bbB}	82,65 ± 0,10 ^{bbB}	87,56 ± 1,40 ^{bA}	88,86 ± 1,68 ^{bA}	89,85 ± 1,43 ^{aA}
Eugenol (15.000)	89,75 ± 0,64 ^{aA}	82,83 ± 0,60 ^{aB}	84,45 ± 0,24 ^{abB}	92,67 ± 2,05 ^{aA}	92,80 ± 1,41 ^{aA}	91,34 ± 0,94 ^{aA}
TBHQ (25)	88,20 ± 0,88 ^{aA}	80,73 ± 3,56 ^{abC}	86,12 ± 0,09 ^{aAB}	84,26 ± 0,02 ^{cB}	85,39 ± 1,57 ^{cAB}	86,37 ± 0,70 ^{bAB}

EN 14111: 120 g I₂ 100 g⁻¹.

Médias e desvio padrão seguidas por letras minúsculas iguais nas colunas, não diferem entre si. Letras maiúsculas iguais nas linhas não diferem entre si. Teste de Tukey, p < 0,05 e R² = 0.9999.

Tabela 6. Valores de peróxido para as amostras de BC ausente, aditivadas com Eugenol e aditivadas com TBHQ.

Antioxidante (mg kg ⁻¹)	Tempo (dias) IP (meq kg ⁻¹)					
	0	30	60	90	120	150
Ausente (0)	0,83 ± 0,01 ^{aD}	2,45 ± 0,01 ^{bC}	2,85 ± 0,12 ^{bB}	2,88 ± 0,08 ^{cB}	2,97 ± 0,03 ^{cB}	4,28 ± 0,03 ^{aA}
Eugenol (15.000)	0,90 ± 0,05 ^{aD}	3,06 ± 0,09 ^{aC}	3,45 ± 0,07 ^{aB}	3,98 ± 0,01 ^{aA}	3,91 ± 0,09 ^{aA}	3,38 ± 0,16 ^{bB}
TBHQ (25)	0,88 ± 0,02 ^{aE}	1,70 ± 0,06 ^{cD}	2,29 ± 0,02 ^{cC}	3,36 ± 0,02 ^{bA}	3,34 ± 0,06 ^{bA}	3,17 ± 0,02 ^{cB}

Não especificado pelos órgãos reguladores.

Médias e desvio padrão seguidas por letras minúsculas iguais nas colunas, não diferem entre si. Letras maiúsculas iguais nas linhas não diferem entre si. Teste de Tukey, $p < 0,05$ e $R^2 = 0.9832$.

Tabela 7. Valores de período de indução para as amostras de BC ausente, aditivadas com Eugenol e aditivadas com TBHQ.

Antioxidante (mg kg ⁻¹)	Tempo (dias) PI (horas)					
	0	30	60	90	120	150
Ausente (0)	10,48 ± 0,04 ^{cA}	9,98 ± 0,05 ^{cB}	9,18 ± 0,04 ^{cC}	8,59 ± 0,05 ^{bD}	8,12 ± 0,03 ^{cE}	7,60 ± 0,06 ^{cF}
Eugenol (15.000)	11,42 ± 0,08 ^{bA}	11,00 ± 0,11 ^{bC}	11,28 ± 0,08 ^{bAB}	11,15 ± 0,15 ^{aBC}	11,11 ± 0,03 ^{aBC}	10,73 ± 0,06 ^{aD}
TBHQ (25)	13,43 ± 0,05 ^{aA}	12,57 ± 0,05 ^{aB}	11,66 ± 0,05 ^{aC}	11,08 ± 0,16 ^{bD}	10,95 ± 0,02 ^{aD}	10,28 ± 0,03 ^{bE}

ANP N° 45, de 25.8.2014: mínimo de 8,0 horas.

Médias e desvio padrão seguidas por letras minúsculas iguais nas colunas, não diferem entre si. Letras maiúsculas iguais nas linhas não diferem entre si. Teste de Tukey, $p < 0,05$ e $R^2 = 0.9997$.

Caracterização por espectroscopia de absorção no UV

Por meio desse método espectroscópico foi possível determinar a absorbância do biodiesel em comprimentos específicos de onda do espectro ultravioleta, cujo resultado forneceu indicação do grau de oxidação em cada tratamento. A oxidação de ésteres de ácidos graxos poli-insaturados ocorre com formação de hidroperóxidos e deslocamento das duplas ligações, com consequente formação de dienos conjugados (JADHAV et al., 1995; SERRANO et al., 2013), que absorvem em 232 nm. Observou-se intensa absorção em 232 nm, característico da formação de dienos conjugados (Figura 5).

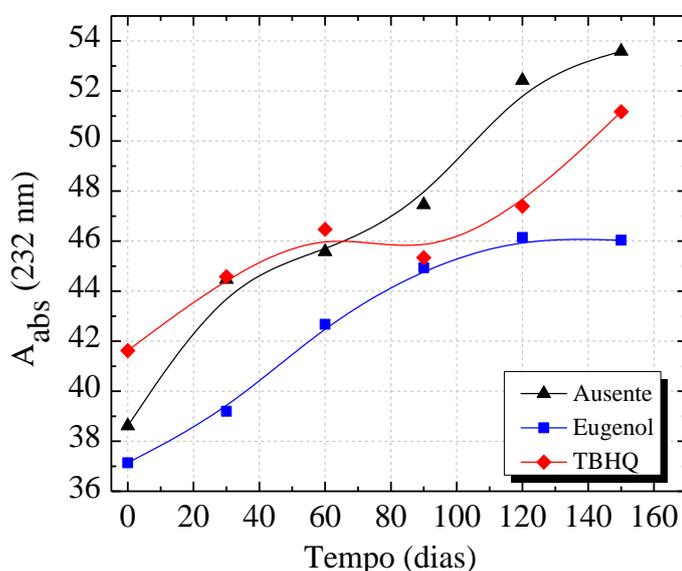


Figura 5. Absorção no UV em 232 nm, comprimento de onda característico de dienos conjugados, para os três tratamentos durante estocagem.

A produção de dienos conjugados aumenta com o tempo de estocagem. A partir de 120 dias, há redução na produção de dienos na amostra com Eugenol, apresentado pelo gráfico com certa estabilidade entre 120 e 150 dias de estocagem. A amostra ausente de antioxidante e a amostra com TBHQ continuam apresentando alta absorção em 232 nm, indicando que o Eugenol está controlando a oxidação de forma mais eficiente.

De acordo com Pramod et al. (2013), o comprimento de onda de absorção máximo ($\lambda_{\text{máx}}$) do Eugenol é em 282 nm, e na última medida, com 150 dias de estocagem, pelo espectro de absorção (UV) observou-se este comprimento de onda característico do Eugenol, o que comprova que o mesmo ainda está presente na amostra (Figura 6). Neste comprimento de onda (282 nm), a amostra com TBHQ apresentou traços de absorção não significativos, semelhante à amostra ausente de antioxidante.

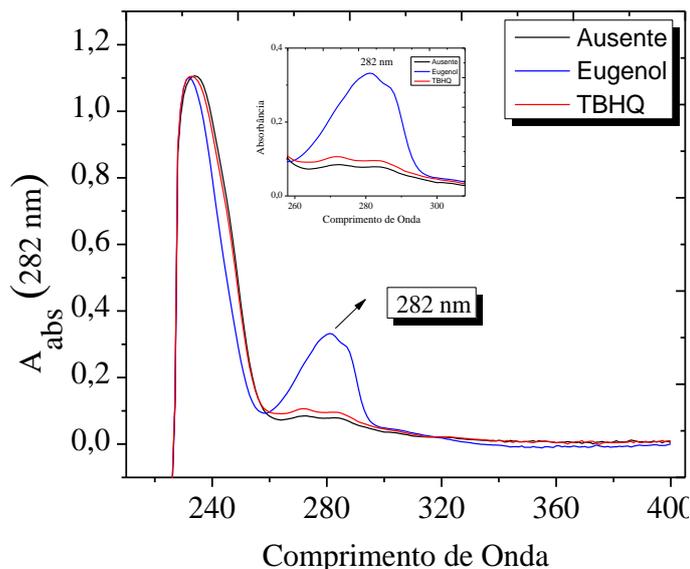


Figura 6. Absorção no UV para os três tratamentos com 150 dias de estocagem, destacando o comprimento de onda característico do Eugenol (282 nm).

Os produtos secundários da oxidação, trienos conjugados, acetonas ou as cetonas insaturadas, apresentam um máximo de absorção em 270 nm, indicando estado elevado de oxidação, e pela Figura 7, observa-se que na amostra com Eugenol é identificado somente o comprimento de onda característica do Eugenol (282 nm) e nenhuma produção dos compostos secundários na amostra ausente de antioxidante e na amostra com TBHQ, o que caracteriza que as amostras de biodiesel estão em estágio inicial do processo oxidativo, onde há a formação dos dienos conjugados (232 nm) (Figura 5).

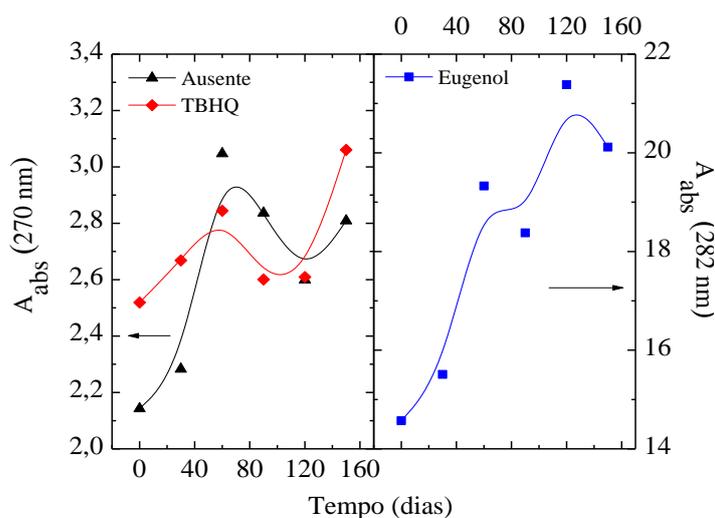


Figura 7. Absorção em 270 nm, comprimento de onda característico de trienos conjugados, cetonas, o que caracteriza estágio oxidativo avançado e 282 nm, característico do Eugenol.

2.5. Conclusão

Apesar do Eugenol e do TBHQ terem mecanismos de ação semelhantes, o Eugenol apresentou melhor ação antioxidante, retardando a formação de ácidos graxos livres o que levou a menores valores de IA e à maior estabilidade oxidativa.

Os valores encontrados para período de indução, índice de acidez, e de iodo permaneceram dentro dos valores estabelecidos pelos órgãos reguladores, para as amostras com os antioxidantes Eugenol e TBHQ. Em relação ao BC (ausente), somente o período de indução ficou abaixo do valor estipulado pela ANP quando completou 150 dias de estocagem. Este fato pode ser indicativo de que é mais vantajoso produzir biodiesel a partir de blendas compostas por gorduras saturadas, o que pode levar à redução na quantidade de antioxidante utilizado e garantir maior tempo de estocagem.

O método utilizado para o teste de estocagem, D4625, descreve que uma amostra armazenada na temperatura de 43 °C por 4 meses, equivale a um ano estocado à temperatura de 21 °C, portanto, o biodiesel sem antioxidante, se estocado nesta temperatura, mantém boa estabilidade à oxidação por 1 ano, já que os testes foram de 150 dias, e os melhores valores foram observados até 120 dias de estocagem.

Os valores para a amostra com Eugenol sugerem que o biodiesel pode ser estocado sem alterar parâmetros físico-químicos como acidez e iodo por mais de 1 ano de estocagem à temperatura de 21 °C, ou se receber influência de altas temperaturas, como no caso desse teste, poderá ser estocado por mais de 150 dias.

As análises no UV mostraram que com 150 dias de estocagem, o Eugenol ainda estava presente no biodiesel o que justifica os melhores valores encontrados para essa amostra, tanto na estabilidade oxidativa como nos parâmetros físico-químicos de acidez e iodo.

2.6. Referências bibliográficas

_____. ANP. Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. **Qualidade**. Rio de Janeiro, 2015. [Online]. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/wwwanp/rodada-legislacao/qualidade>>. Acesso 15 jul. 2015.

_____. ASTM. Standard Test Method for Acid Number of Petroleum Products by Potentiometric Titration. **Active Standard ASTM D664**. West Conshohocken, 2016. [Online]. Disponível em: <<https://www.astm.org/Standards/D664>>. Acesso em: 06 out. 2016.

_____. ASTM. Standard Test Method for Middle Distillate Fuel Storage Stability at 43 °C (110 °F). **Active Standard ASTM D4625**. West Conshohocken, 2016. [Online]. Disponível em: <<https://www.astm.org/Standards/D4625>>. Acesso em: 06 out. 2016.

BORSATO, D.; DALL'ANTONIA, L. H.; GUEDES, C. L. B.; MAIA, E. C. R.; FREITAS, HS. R.; MOREIRA, I.; SPACINO, K. R. Aplicação do delineamento simplex-centroide no estudo da cinética da oxidação de biodiesel B100 em misturas com antioxidantes sintéticos. **Química Nova**, São Paulo-SP, v. 33, n. 8, p. 1726-1731, 2010.

BOUAID, A.; MARTINEZ, M.; ARACIL, J. Long storage stability of biodiesel from vegetable and used frying oils. **Fuel**, Amsterdam, v. 86, n. 16, p. 2596-2602, 2007.

CANDEIA, R. A. **Biodiesel de soja: síntese, degradação e misturas binárias**. 2008, 132p. Tese (Doutorado em Química orgânica) - Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa-PB, 2008.

CHRISTENSEN, E.; MCCORMICK, R. L. Long-term storage stability of biodiesel and biodiesel blends. **Fuel Processing Technology**, 128, 339-348, 2014.

CINI, J. R. M.; BORSATO, D.; GUEDES, C. L. B.; SILVA, HS. C.; COPPO, L. Comparação dos métodos de determinação da estabilidade oxidativa de biodiesel B100, em mistura com antioxidantes sintéticos, aplicação do delineamento simplex-centroide com variável de processo. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 1, p. 79-84, 2013.

_____. EN. European Standards. **CSN EN 14112 - Fat and oil derivatives - Fatty Acid Methyl Esters (FAME) - Determination of oxidation stability (accelerated oxidation test)**. Plzeň, 2016. [Online]. Disponível em: <<http://www.en-standard.eu/csn-en-14112-fat-and-oil-derivatives-fatty-acid-methyl-esters-fame-determination-of-oxidation-stability-accelerated-oxidation-test/>>. Acesso em: 06 out. 2016.

_____. EN. European Standards **EN 14103 - Fat and oil derivatives – Fatty Acid Methyl Esters (FAME) – Determination of ester and linolenic acid methyl ester contents**. Brussels: European Committee for Standardization (CEN), 2003. 11p.

_____. EN. European Standards. **CSN EN 14111 - Fat and oil derivatives - Fatty Acid methyl Esters (FAME) - Determination of iodine value**. London, 2003. [Online]. Disponível em: <<http://www.en-standard.eu/csn-en-14111-fat-and-oil-derivatives-fatty-acid-methyl-esters-fame-determination-of-iodine-value/>>. Acesso em: 06 out. 2016.

_____. ISO. International Organization for Standardization. **ISO 3961:2013 - Animal and vegetable fats and oils - Determination of iodine value**. Geneva, 2013. [Online]. Disponível em: <http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=61278>. Acesso em: 06 out. 2016.

_____. ISO. International Organization for Standardization. **ISO 27107:2008(en) - Animal and vegetable fats and oils - Determination of peroxide value - Potentiometric end-point determination**. Geneva, 2008. [Online]. Disponível em: <<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:27107:ed-1:v2:en>>. Acesso em: 01 fev. 2016.

ÍNANÇ, T.; MASKAN, M. Effect of carvacrol on the oxidative stability of palm oil during frying. **Grasas y Aceites**, Sevilha, v. 65, n. 4, p. 1-8, 2014.

JADHAV, S. J.; NIMBALKAR, S. S.; KULKARNI, A. D.; MADHAVI, D. L.; RAJALAKSMI, D.; NARASIMHAN, S. Lipid oxidation in biological and food systems. In: MADHAVI, D. L.; DESHPANDE, S. S.; SALUNKHE, D. K. (Eds). **Food Antioxidants: Technological, Toxicological, and Health Perspectives**. 1. ed. New York: Marcel Dekker Inc. 1995. p. 5-51.

KNOTHE, G. Some aspects of biodiesel oxidative stability. **Fuel Processing Technology**, Perth, v. 88, n. 7, p. 669-677, 2007.

LEUNG, D. Y. C.; KOO, B. C. P.; GUO, Y. Degradation of biodiesel under different storage conditions. **Bioresource technology**, Barking, v. 96, n. 2, p. 250-256, 2006.

LIANG, Y. F.; MAY, C. Y.; FOON, C. S.; NGAN, M. A.; HSOCK, C. C.; BARISON, Y. The effect of natural and Synthetic antioxidants on the oxidative stability of palm diesel. **Fuel**, London, v. 85, n. 5, p. 867-870, 2006.

METHORM. **Analysis of edible oils and fats**. Application Bulletin 141/4. Herisau: Methorm, 2015. 17p.

MITTELBACH, M.; GANGL, S. Long storage stability of biodiesel made from rapeseed and used frying oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Peoria, v. 78, n. 6, p. 573-577, 2001.

MOSER, B. R. Influence of Blending Canola, Palm, Soybean, and Sunflower Oil Methyl Esters on Fuel Properties of Biodiesel. **Energy & Fuels**, Newark, v. 22, n. 6, p. 4301-4306, 2008.

PARK, J. Y.; KIM, D. K.; LEE, J. P.; PARK, S. C.; KIM, Y. J.; LEE, J. S. Blending effects of biodiesels on oxidation stability and low temperature flow properties. **Bioresource Technology**, London, v. 99, n. 5, p. 1196–1203, 2008.

PEREIRA, C. A. M.; MAIA, J. F. Estudo da atividade antioxidante do extrato e do óleo essencial obtidos das folhas de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 3, p. 624-632, 2007.

PINZI, S.; GARCIA, I. L.; LOPEZ-GIMENEZ, F.J.; LUQUE de CASTRO, M. D.; DOURADO, G.; DOURADO, M. P. The ideal vegetable oil-based biodiesel composition: a review of social, economical and technical implications. **Energy & Fuels**, Newark, v. 23, n. 5, p. 2325-2341, 2009.

PRAMOD, K.; ANSARI, S. H.; ALI, J. Development and validation of UV spectrophotometric method for the quantitative estimation of Eugenol. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, Tokyo, v. 3, n. 2, p. 58-61, 2013.

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

SERRANO, M.; MARTÍNEZ. M.; ARACIL, J. Long term storage stability of biodiesel: influence of feedstock, commercial additives and purification step. **Fuel Processing Technology**, Oxford, v 116, [s. n.], p. 135-141, 2013.

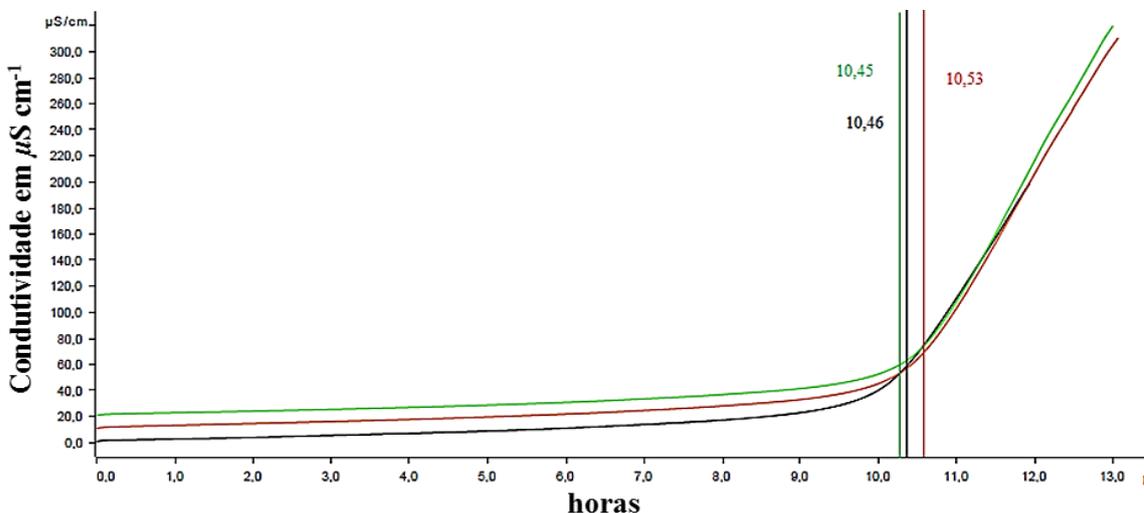
SRISVASTAVA, A.; PRASAD, R. Triglycerides-based diesel fuels. **Renewable and Sustainable Energy**, Golden, v. 4, n. 2, p. 111-133, 2000.

SHAHABUDDIN, M.; KALAM, M. A.; MASJUKI, H. H.; BHUIYA, M. M. K.; MOFIJUR, M. An experimental investigation into biodiesel stability by means of oxidation and property determination. **Energy**, Oxford, v. 44, n. 1, p. 612-622, 2012.

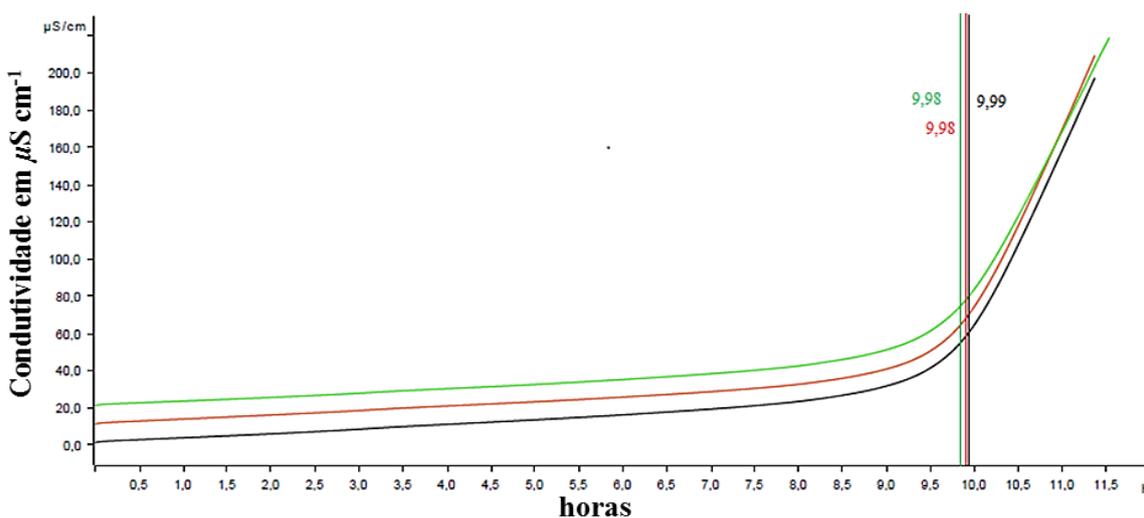
TANG, H. S. GUZMAN, R. C.; SIMONNG, K. Y.; SALLEY, S. O. Effect of Antioxidants on the Storage Stability of Soybean-Oil-Based Biodiesel. **Energy Fuels**, Newark, v. 24, n. 3, p. 2028-2033, 2010.

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**, São Paulo-SP, v. 23, n. 12, p. 2159-2175, 2012.

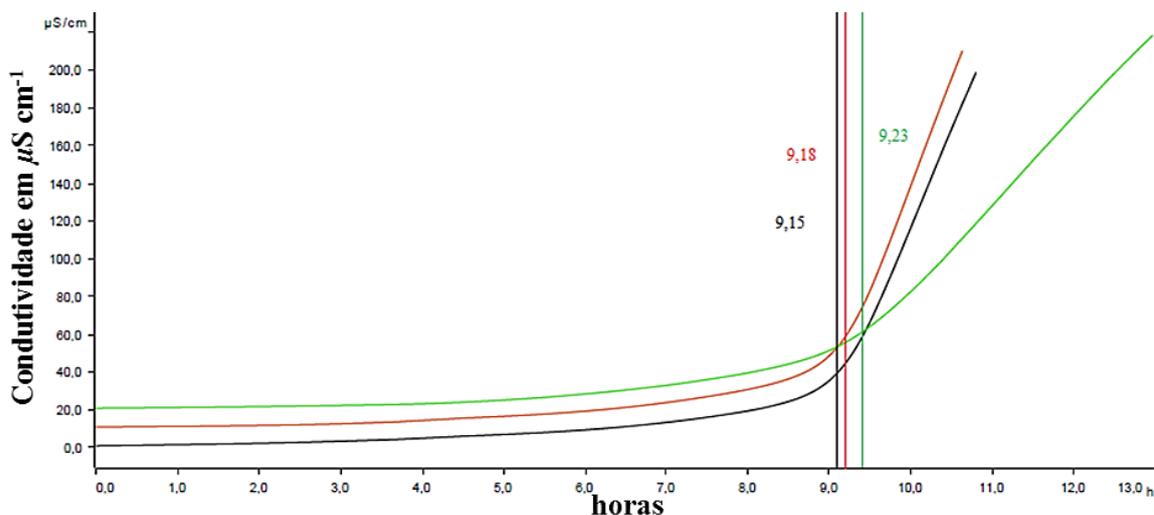
APÊNDICE



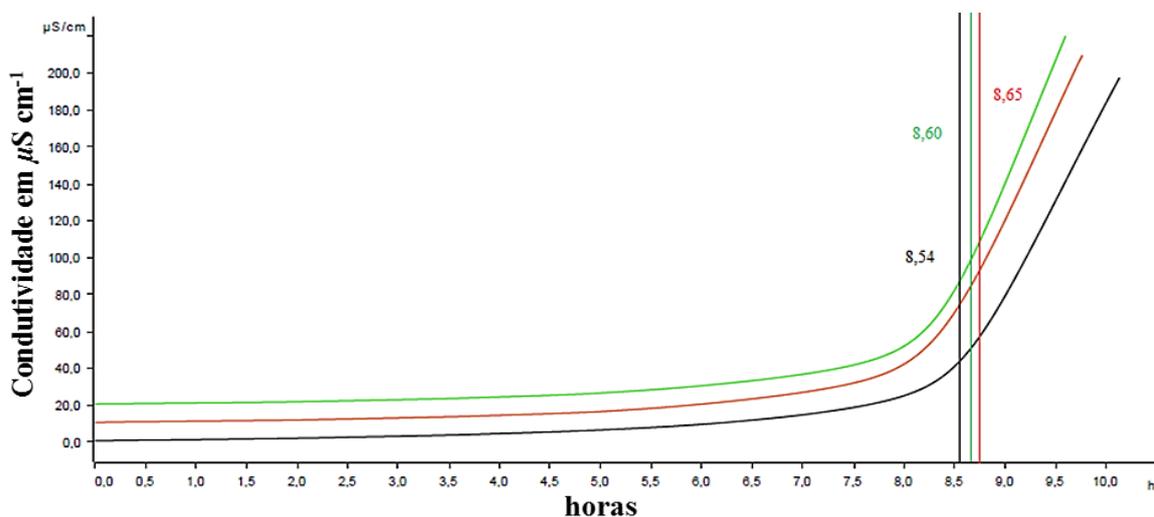
Apêndice 1. Valores de período de indução fornecidos pelo software 893 professional Metrohm (teste Rancimat) para amostra ausente de antioxidante no tempo 0.



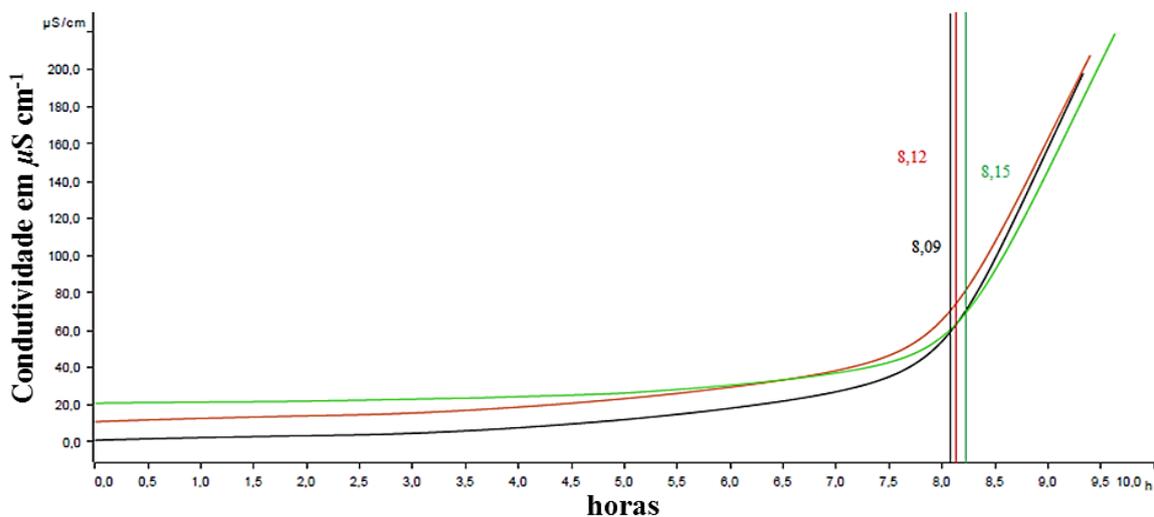
Apêndice 2. Valores de período de indução fornecidos pelo software 893 professional Metrohm (teste Rancimat) para amostra ausente de antioxidante no tempo 30.



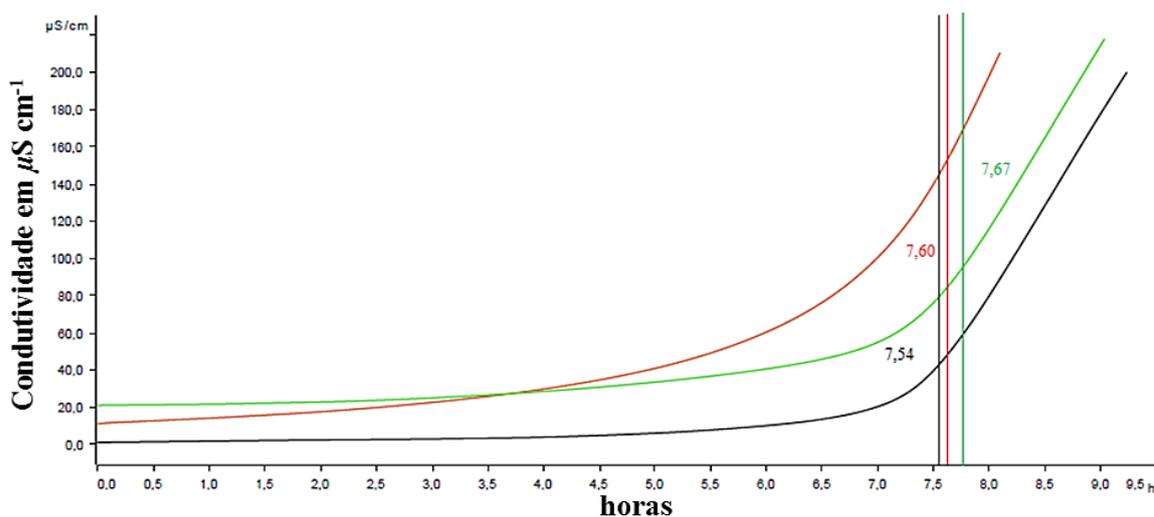
Apêndice 3. Valores de período de indução fornecidos pelo software 893 profissional Metrohm (teste Rancimat) para amostra ausente de antioxidante no tempo 60.



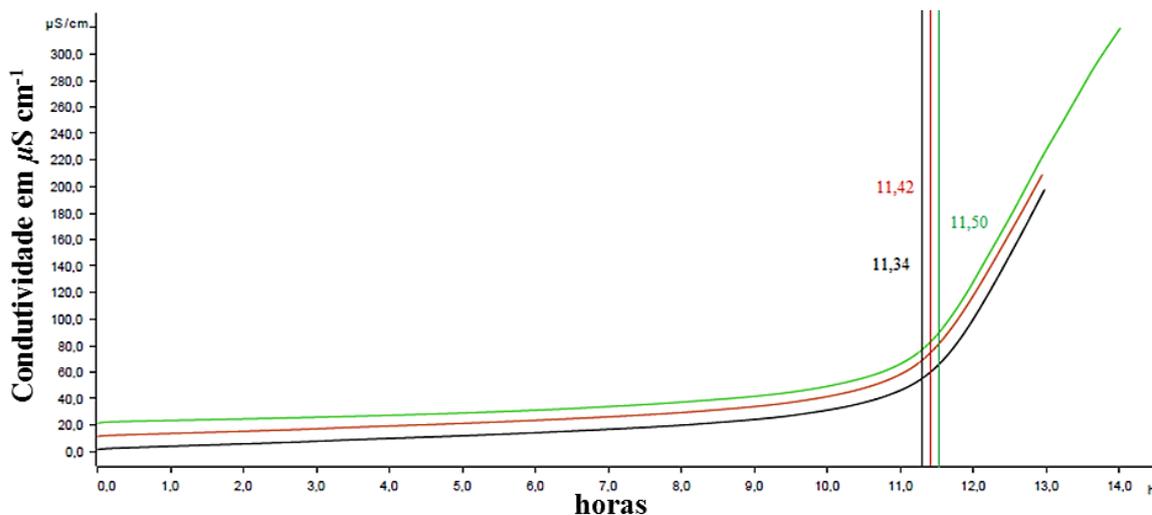
Apêndice 4. Valores de período de indução fornecidos pelo software 893 profissional Metrohm (teste Rancimat) para amostra ausente de antioxidante no tempo 90.



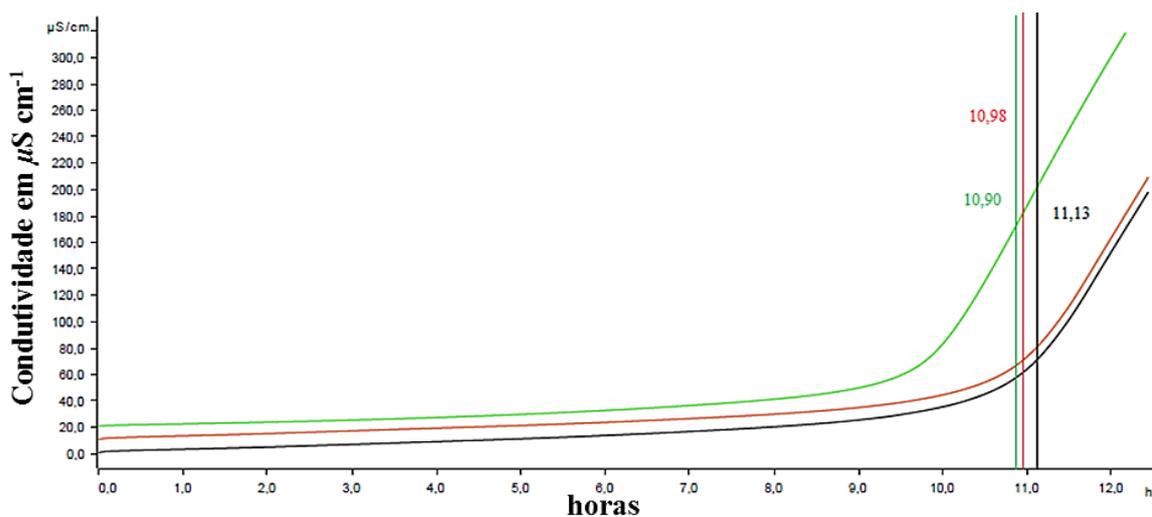
Apêndice 5. Valores de período de indução fornecidos pelo software 893 profissional Metrohm (teste Rancimat) para amostra ausente de antioxidante no tempo 120.



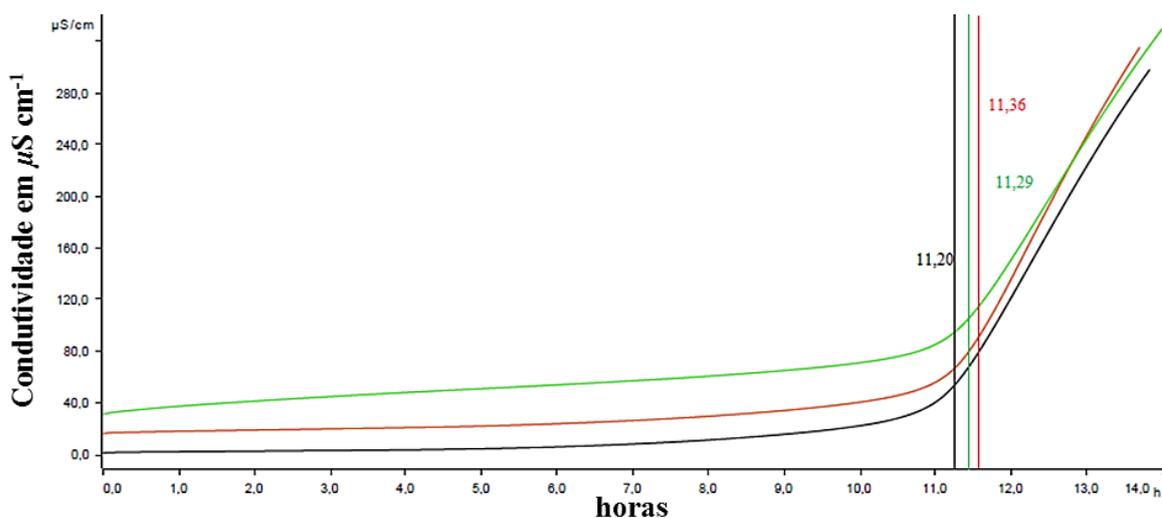
Apêndice 6. Valores de período de indução fornecidos pelo software 893 profissional Metrohm (teste Rancimat) para amostra ausente de antioxidante no tempo 150.



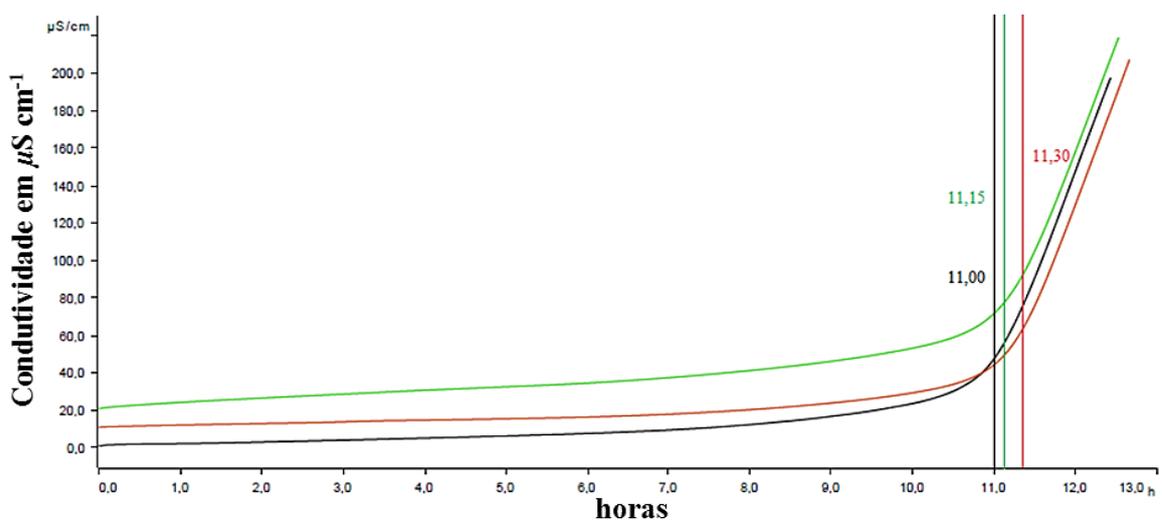
Apêndice 7. Valores de período de indução fornecidos pelo software 893 profissional Metrohm (teste Rancimat) para amostra com Eugenol no tempo 0.



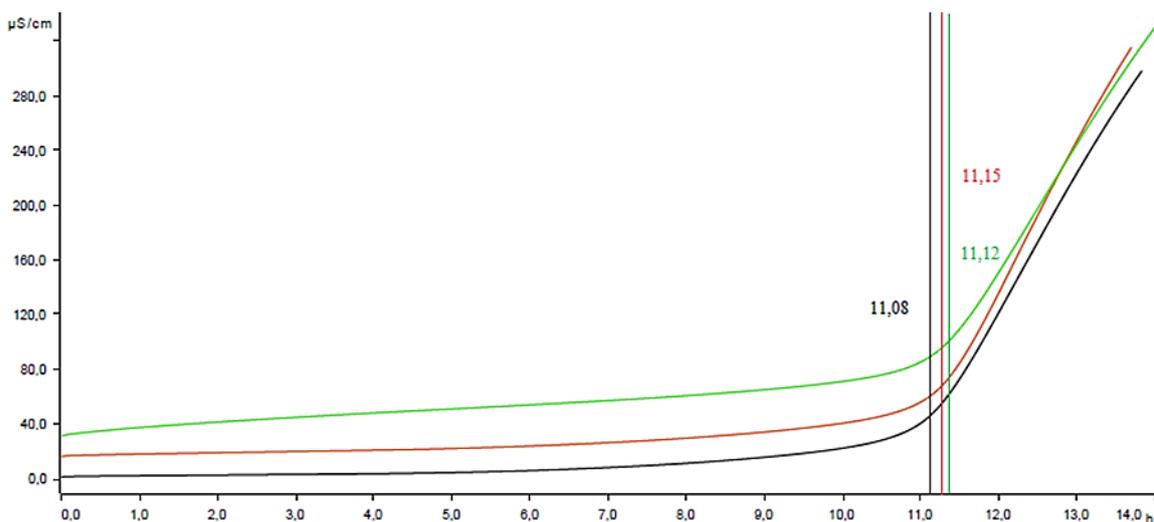
Apêndice 8. Valores de período de indução fornecidos pelo software 893 profissional Metrohm (teste Rancimat) para amostra com Eugenol no tempo 30.



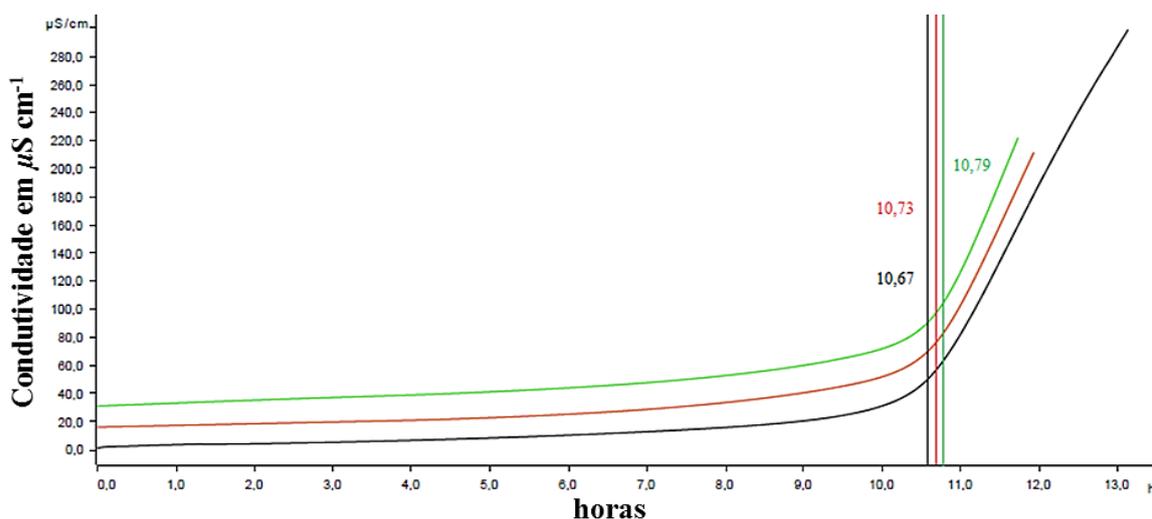
Apêndice 9. Valores de período de indução fornecidos pelo software 893 profissional Metrohm (teste Rancimat) para amostra com Eugenol no tempo 60.



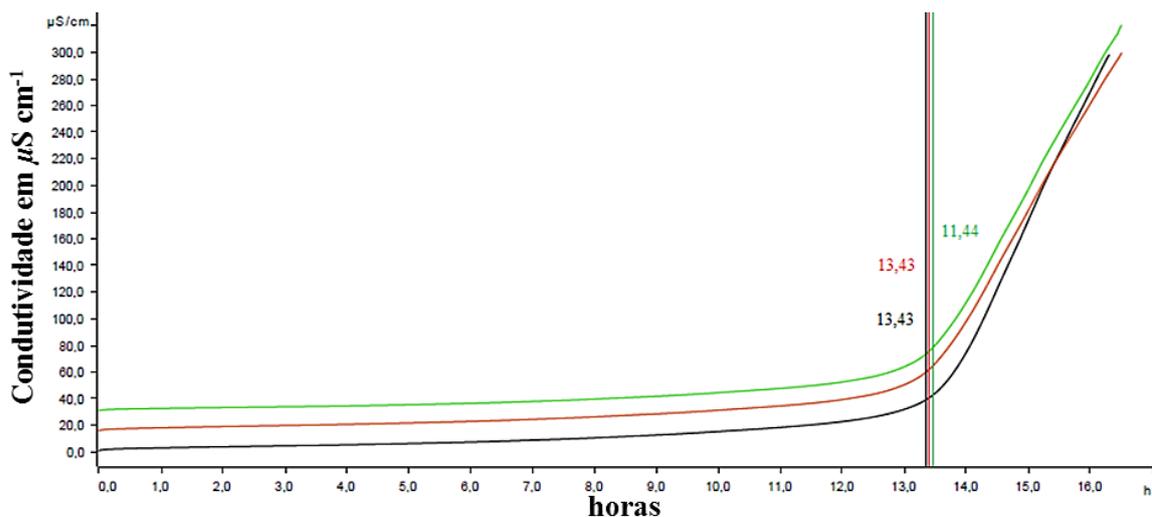
Apêndice 10. Valores de período de indução fornecidos pelo software 893 profissional Metrohm (teste Rancimat) para amostra com Eugenol no tempo 90.



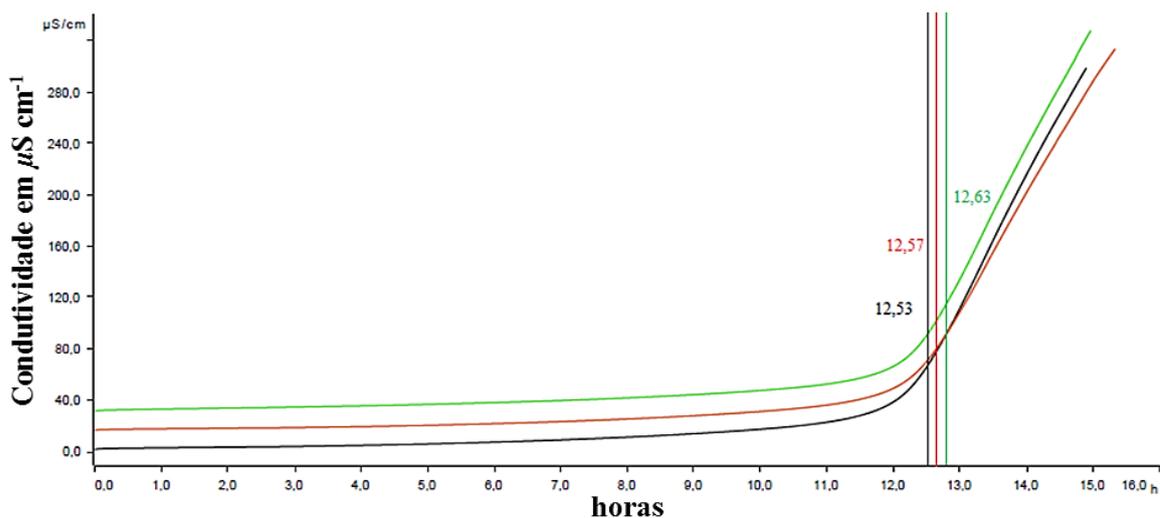
Apêndice 11. Valores de período de indução fornecidos pelo software 893 profissional Metrohm (teste Rancimat) para amostra com Eugenol no tempo 120.



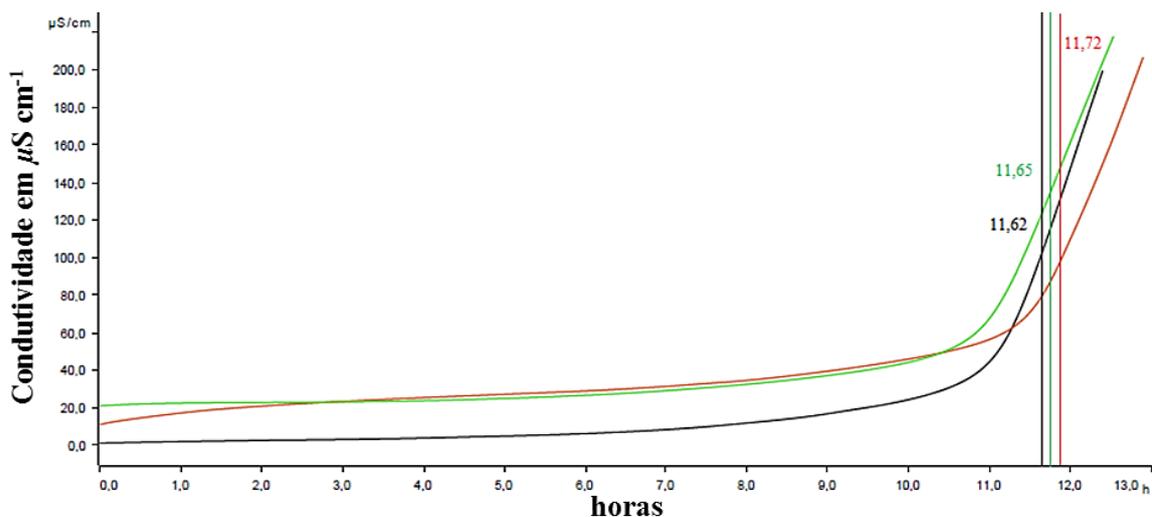
Apêndice 12. Valores de período de indução fornecidos pelo software 893 profissional Metrohm (teste Rancimat) para amostra com Eugenol no tempo 150.



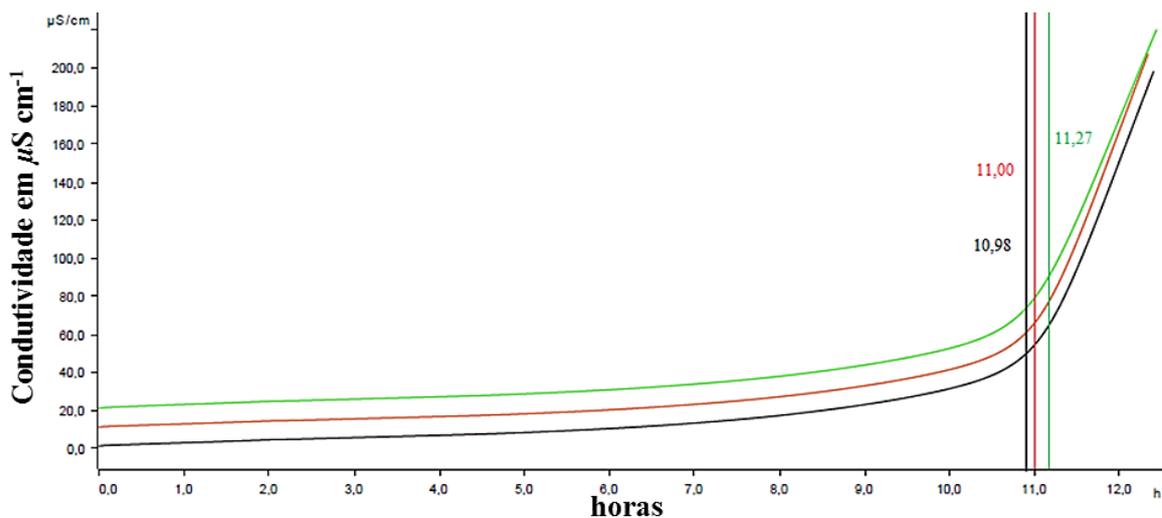
Apêndice 13. Valores de período de indução fornecidos pelo software 893 profissional Metrohm (teste Rancimat) para amostra com TBHQ no tempo 0.



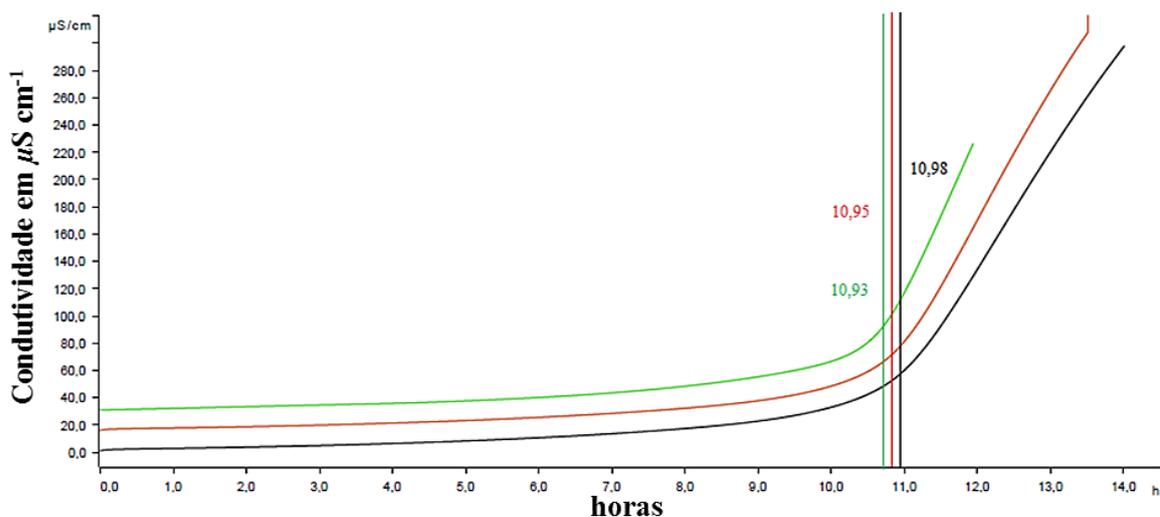
Apêndice 14. Valores de período de indução fornecidos pelo software 893 profissional Metrohm (teste Rancimat) para amostra com TBHQ no tempo 30.



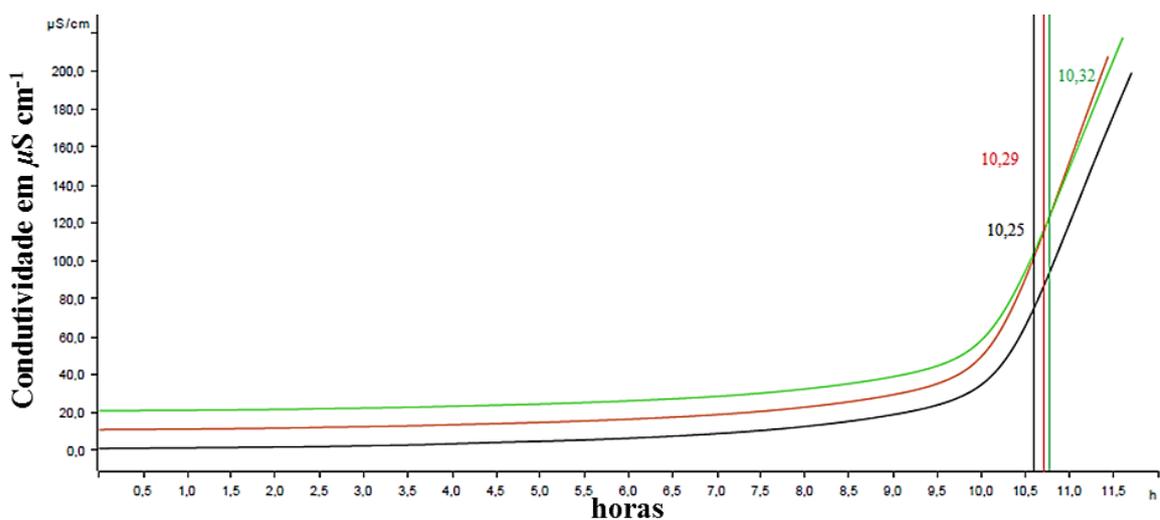
Apêndice 15. Valores de período de indução fornecidos pelo software 893 profissional Metrohm (teste Rancimat) para amostra com TBHQ no tempo 60.



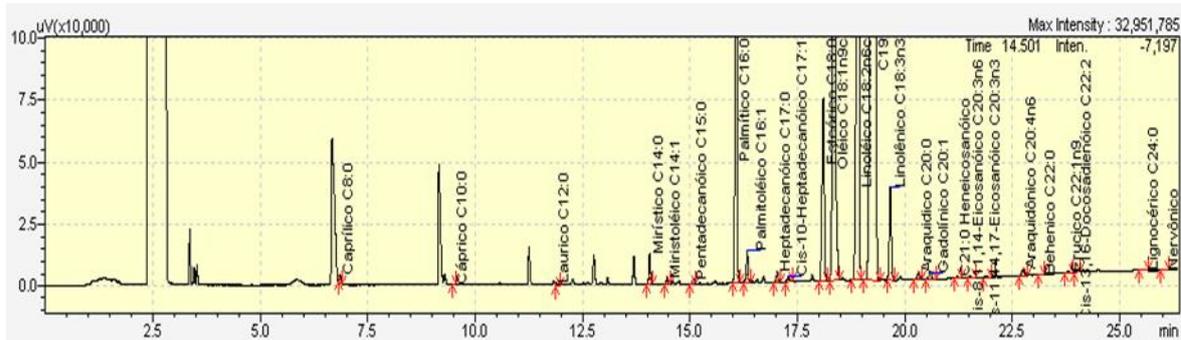
Apêndice 16. Valores de período de indução fornecidos pelo software 893 profissional Metrohm (teste Rancimat) para amostra com TBHQ no tempo 90.



Apêndice 17. Valores de período de indução fornecidos pelo software 893 profissional Metrohm (teste Rancimat) para amostra com TBHQ no tempo 120.



Apêndice 18. Valores de período de indução fornecidos pelo software 893 profissional Metrohm (teste Rancimat) para amostra com TBHQ no tempo 150.



Apêndice 19. Cromatografia do biodiesel comercial produzido a partir de blenda composta por óleo de soja e gordura animal.