



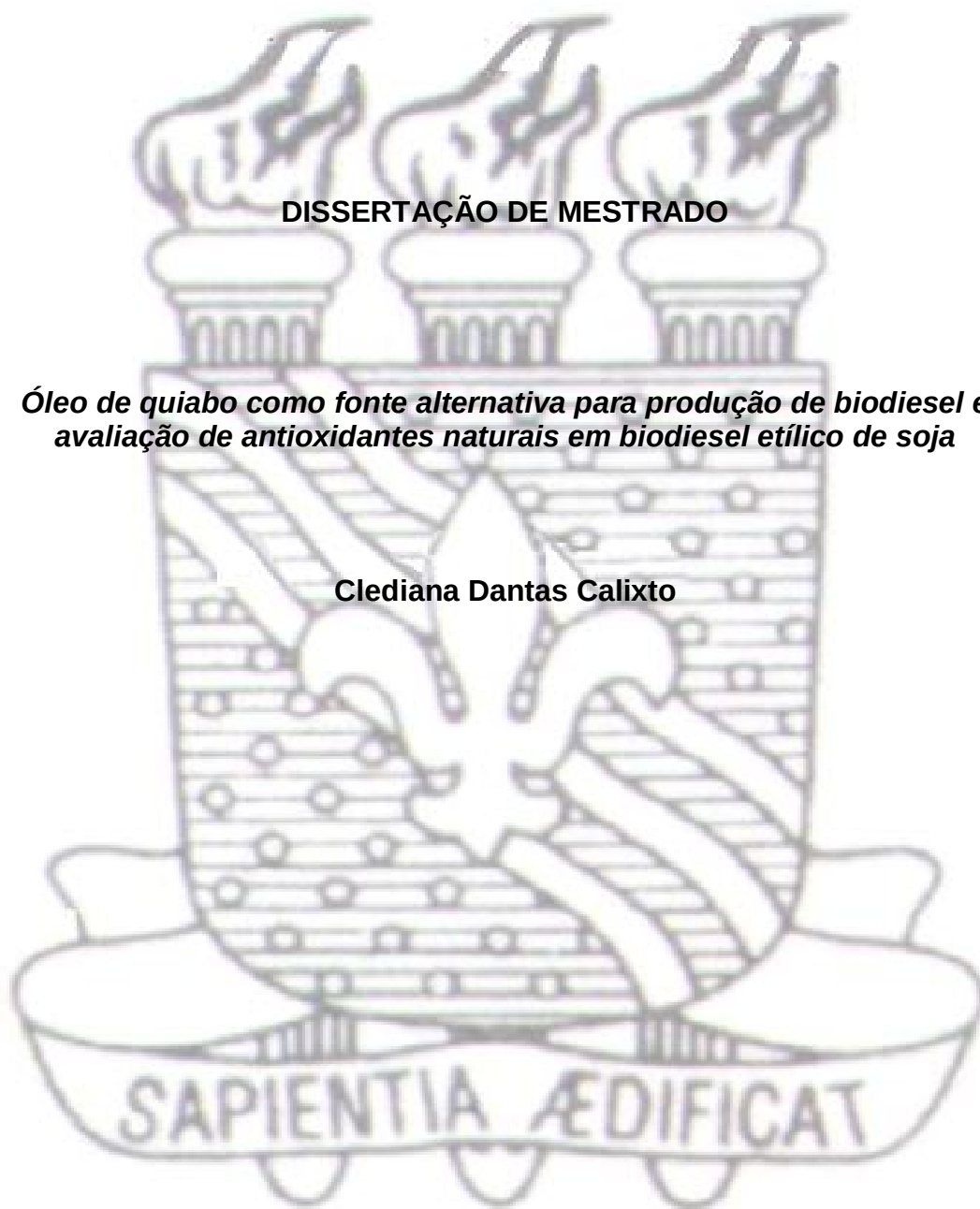
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

*Óleo de quiabo como fonte alternativa para produção de biodiesel e
avaliação de antioxidantes naturais em biodiesel etílico de soja*

Clediana Dantas Calixto



João Pessoa – PB - Brasil
Julho – 2011



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

*Óleo de quiabo como fonte alternativa para produção de biodiesel e
avaliação de antioxidantes naturais em biodiesel etílico de soja*

Clediana Dantas Calixto*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
Graduação em Química, do Centro de Ciências
Exatas e da Natureza, Universidade Federal da
Paraíba, em cumprimento às exigências para
obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadores: Prof^a. Dr^a. Antonia Lúcia de Souza
Prof.Dr. Antônio Gouveia de Souza

*Bolsista: Capes

SAPIENTIA ÆDIFICAT

João Pessoa – PB – Brasil
Julho – 2011

C154o Calixto, Clediana Dantas.

Óleo de quiabo como fonte alternativa para produção de biodiesel e avaliação de antioxidantes naturais em biodiesel etílico de soja / Clediana Dantas Calixto.-- João Pessoa, 2011.

120f. : il.

Orientadores: Antonia Lúcia de Souza, Antônio Gouveia de Souza

Dissertação (Mestrado) – UFPB/CCEN

1. Química. 2. Biodiesel. 3. Óleo de quiabo. 4. Aditivos antioxidantes. 4. Estabilidade oxidativa.

Óleo de Quiabo como Fonte Alternativa para Produção de Biodiesel e Avaliação de Antioxidante Naturais em Biodiesel Etílico de Soja.

Aprovada pela banca examinadora:



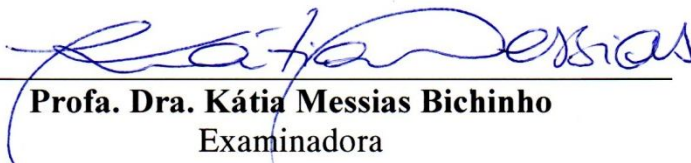
Prof. Dra. Antonia Lúcia de Souza
Orientadora/Presidente



Prof. Dr. Antonio Gouveia de Souza
2º. Orientador



Prof. Dr. Leonardo Sena Gomes Teixeira
Examinador



Prof. Dra. Kátia Messias Bichinho
Examinadora



Prof. Dra. Neide Queiroz
Examinadora

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação a Deus, instrumento de sabedoria, amor e confiança.
Aos meus familiares, em especial aos meus pais, José e Alexandrina, pelo amor incondicional a mim dedicado e por serem exemplo permanente de dignidade, honestidade e perseverança.

AGRADECIMENTOS

- Agradeço a Deus por todos os momentos vividos, pelo fortalecimento espiritual, pelo amor concedido, por me dar força e confiança para concluir etapas importantes na minha vida e por me carregar nos braços quando o cansaço já me impedia de caminhar;
- Aos meus familiares, em especial aos meus pais e minhas irmãs pela dedicação, apoio, carinho e amor e pelo grande incentivo e encorajamento nos momentos mais difíceis. Por me mostrarem a importância da família em minha vida;
- A Rene por todo amor, companheirismo, paciência e incentivo nos momentos difíceis. Pelo ombro amigo, conselheiro, pelos momentos felizes e pelas grandes contribuições em vários momentos e principalmente para finalização deste trabalho;
- Ao meu tio Manoel que é um dos maiores responsáveis pela iniciação e conclusão desta etapa da minha vida. Meus sinceros agradecimentos pela amizade, orientação, pelo amparo, pela agradabilíssima convivência, pelos incentivos nos momentos difíceis e pelo exemplo de profissionalismo;
- A Prof. Dr^a. Antonia Lúcia de Souza pela orientação, sugestões, críticas e experiência compartilhada;
- Ao Prof. Dr. Antonio Gouveia de Souza, pela orientação, amizade, profissionalismo, pela confiança e por disponibilizar meios para realização deste trabalho;
- Aos professores do Lacom, José Rodrigues, Neide, Iêda e Ari pela grande colaboração, troca de experiências, apoio e orientação;
- A Dona Lourdinha e Alone pelo carinho, amizade e simpatia na Secretaria do LACOM;
- Aos técnicos do LACOM, Lúcia, e Evaneide pelo profissionalismo na realização das análises e pela troca de experiências e companheirismo;
- A Raul e a Nataly pela transmissão dos conhecimentos em instrumentação;

- Aos grandes amigos conquistados: Andréa Suame, Andréa Mélo, Anderson Reis, Sara, Flávia, Marco Aurélio, Luzenir, Poliana e Jaqueline por contribuírem enormemente nos diversos momentos do mestrado, sempre com muito carinho e palavras de incentivo nos momentos difíceis. Vocês foram imprescindíveis nesta etapa da minha vida!
- Aos meus colegas de laboratório: Anderson Eduardo, Crhistiano, Jandilson, João Jarlys, Mary, Hebert, Jefferson, Lécia, Márcia, Kassandra, Ielena, Petrúcio, Danielle, Marcos Pequeno, Rebeka, Pedro, Marcel, Kiko, Alcilene, Verônica, Arnaira por me receberam com muito carinho e me propiciaram uma excelente convivência e momentos inesquecíveis de descontração.
- A Teta, minha mãezona no laboratório, que com suas diárias demonstrações de carinho e amizade me fizeram perceber o quanto é importante desfrutar de amizades verdadeiras;
- Aos colegas do grupo de cerâmica e alimentos pela convivência e companheirismo;
- A CAPES pela bolsa concedida e a todos que direto ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Humilha teu coração espera com paciência,
Dá ouvido e acolhe as palavras de sabedoria;
Não te perturbes no tempo da infelicidade
Sofre as demoras de Deus;
Dedica-te a Deus, espera com paciência,
A fim de que no derradeiro momento tua vida se enriqueça.

Eclesiástico 2: 2, 3

Título: Óleo de quiabo como fonte alternativa para produção de biodiesel e avaliação de antioxidantes naturais no biodiesel etílico de soja.

Autor: Clediana Dantas Calixto

Orientadores: Prof. Dr^a. Antônia Lúcia de Souza

Prof. Dr. Antônio Gouveia de Souza

Resumo

O biodiesel foi implantado em escala comercial no Brasil em 2005 e atualmente vem sendo utilizado como aditivo no diesel, na proporção de 5%, se consolidando firmemente na matriz energética brasileira. No entanto, sua utilização ainda enfrenta sérios problemas inerentes a serem superados. Um aspecto envolve a questão da matéria-prima utilizada para a produção deste biocombustível, pois apesar do país ser um celeiro no cultivo de oleaginosas, a soja constitui-se ainda como a principal fonte produtora. Outro obstáculo é a alta susceptibilidade à oxidação de determinados tipos de biodiesel, que torna necessário o uso de aditivos antioxidantes para aumentar o tempo de vida útil dos mesmos. Neste trabalho foram avaliadas as qualidades técnicas combustíveis do biodiesel produzido a partir do óleo de quiabo, oleaginosa não convencional, e de blendas de biodiesel de quiabo e de soja nas proporções de 25 e 50% (v/v). Os resultados apontaram um perfil de ésteres de ácidos graxos do biodiesel de quiabo, com uma composição elevada de ésteres insaturados (65,42%) principalmente linoleato de etila, mas com uma quantidade expressiva de palmitato (30,44%). As propriedades de fluxo do biodiesel mostraram valores concordantes com o estabelecido pelas normas da ANP para comercialização. A estabilidade oxidativa realizada de acordo com a norma EN 14112 indicou um período de indução de 7,54 h, atendendo a especificação (6h). Em relação às blendas verificou-se que a adição de 50% de quiabo acresceu o período de indução da soja de 3,11 h para 5,80 h. Em contrapartida a blenda de 25% de biodiesel de quiabo apresentou efeito pró-oxidante ao biodiesel de soja. No presente estudo, investigou-se também a eficácia antioxidante de extratos naturais das cascas do limão siciliano e da romã e dos talos e folhas da erva *camellia sinensis* (chá-verde) na correção da estabilidade oxidativa do biodiesel de soja. Onde, verificou-se que todos os extratos apresentaram efeito antioxidante, elevando os períodos de indução do biodiesel etílico de soja nos três ensaios de oxidação acelerada realizados, PetroOxy, Rancimat e PDSC. O extrato etanólico de chá verde na concentração de 2000 mg kg⁻¹ apresentou-se como o mais efetivo entre os demais, conseguindo adequar o período de indução do biodiesel de soja ao valor mínimo especificado (6 h), apontando a utilização destes extratos como aditivos antioxidantes promissores para correção da estabilidade oxidativa do biodiesel de soja.

Palavras-chave: biodiesel, aditivos antioxidantes e estabilidade oxidativa.

Title: Okra oil as an alternative source for biodiesel production and evaluation of natural antioxidants in of soybean biodiesel ethyl.

Author: Clediana Dantas Calixto

Advisers: Prof. Dr. Antonia Lúcia de Souza

Prof. Dr. Antônio Gouveia de Souza

Abstract

Biodiesel has been implemented in a commercial scale in Brazil 2005 and is currently being use like additive in the diesel in proportion to 5%, firmly is consolidating in the Brazilian energy matrix. However, its use is still facing serious problems to be overcome. One of the aspects involves the question of raw material used for the production of biofuel, because despite the country being a barn of oilseeds, soybeans still constitutes the main source producer. Another obstacle is the high susceptibility to oxidation of certain types of biodiesel, which requires the use of antioxidant additives to increase the lifetime of them. In this work we evaluate the technical qualities of biodiesel fuel produced from oil, okra, non conventional oilseed, biodiesel and blends of soybean and okra on the proportions of 25 and 50% (v / v). The results showed a profile of fatty acid esters of biodiesel of okra, with a high composition of unsaturated esters (65.42%) mainly of ethyl linoleate, but with a significant amount of palmitate (30.44%). The flow properties of biodiesel showed values concordant with the norms established by the ANP for sale. The oxidative to performed according with EN 14112 showed an induction period of 7.54 h, meeting the specification 6h. In relation to the blends, the 50% plus the induction period of biodiesel from soybean 3.11h to 5.80h. In contrast to blend of 25% had pro-oxidant effect of soybean biodiesel. In the present study we investigated also the antioxidant efficacy of natural extracts lemon peels, and the pomegranate and herb stems and leaves of the *camellia sinensis*, (green tea) in the correction of oxidative stability to of biodiesel from soy beans. Where it was found that all extracts showed antioxidant effect, bringing periods of induction of ethyl of soybean biodiesel in the three experiments made accelerated oxidation, PetroOxy, Rancimat and PDSC. The ethanol extract of green tea at a concentration of 2000 mg kg⁻¹ appeared as the most effective among the rest, getting fit the induction period of biodiesel from soybeans to the specified minimum value.

Keywords: biodiesel, additives, antioxidants and oxidative stability

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 - Esquema da reação de transesterificação de um triacilglicerídeo catalisada por base.....	23
Figura 3.2 – Principais matérias-primas utilizadas para produção de biodiesel no Brasil no ano de 2011.....	25
Figura 3.3 – Composição em ácidos graxos dos principais óleos e gordura.....	26
Figura 3.4 – Etapa de iniciação da reação de autoxidação.....	36
Figura 3.5 – Etapa de propagação da reação de autoxidação.....	37
Figura 3.6 – Etapa de terminação da reação de autoxidação.....	38
Figura 3.7 – Proposta de mecanismo da fotoxidação em moléculas de ácidos graxos insaturados.....	39
Figura 3.8 – Estrutura química dos principais antioxidantes sintéticos usados comercialmente.....	40
Figura 3.9 – Estrutura química geral dos flavonóides.....	42
Figura 3.10 – Principais Classes de Flavonóides.....	43
Figura 3.11 – Mecanismo de Ação dos Antioxidantes Primários.....	46
Figura 3.12 – Esquema de ação dos antioxidantes sinergistas.....	47
Figura 3.13 – Estrutura química do DPPH e reação com um antioxidante.....	51
Figura 3.14 – Esquema de funcionamento do equipamento Rancimat.....	52
Figura 3.15 – Esquema do perfil da curva representativa do processo de oxidação acelerada no PetroOxy.....	53
Figura 4.1 – Matérias-Primas (trituradas) utilizadas para preparação dos extratos antioxidantes.....	56
Figura 4.2 – Extratos etanólicos obtidos das fontes vegetais.....	57
Figura 4.3 – Fluxograma referente à síntese dos biodieseis etílicos de soja e de quiabo.....	63
Figura 4.4 – Esquema ilustrativo da preparação das blendas de biodiesel etílico de quiabo e soja.....	67
Figura 4.5 – Ensaios realizados nos biodieseis e blendas.....	69
Figura 4.6 – Esquema dos ensaios realizados nos extratos naturais e	

no biodiesel etílico de soja aditivado.....	71
Figura 5.1 – Espectro de absorção na região do infravermelho do biodiesel etílico de quiabo.....	76
Figura 5.2 – Curvas PDSC do biodiesel etílico de quiabo. (a) não-isotérmica (b) isotérmica a 100°C.....	80
Figura 5.3 – Perfil dos componentes dos biodieseis de quiabo, soja e blendas.....	83
Figura 5.4 – Viscosidade Cinemática dos biodieseis e blendas.....	84
Figura 5.5 – Tendência das propriedades de fluxo com a adição do biodiesel de quiabo na blenda.....	85
Figura 5.6 – Índice de Oxidação versus período de indução para os biodieseis de soja, quiabo e blendas.....	88
Figura 5.7 – Curvas do Rancimat e respectivos períodos de indução dos biodieseis e blendas.....	89
Figura 5.8 – Curvas de PetroOxy (a) e PDSC isotérmico (b) dos biodieseis e blendas.....	90
Figura 5.9 – Cinética de redução do radical livre DPPH pelos extratos vegetais.....	92
Figura 5.10 – Percentual da atividade antioxidante dos extratos vegetais.....	93
Figura 5.11 – Curvas TG para os extratos vegetais e antioxidante sintético TBHQ.....	96
Figura 5.12 – Tempo de Indução Oxidativa a altas pressões (HPOIT) do biodiesel etílico de soja aditivado com diferentes concentrações de extratos vegetais.....	101
Figura 5.13 – Períodos de Indução obtidos pela técnica PetroOxy do biodiesel etílico de soja aditivado com os diferentes extratos vegetais.....	102
Figura 5.14 – Tendência nos períodos de indução da técnica Rancimat do biodiesel etílico de soja com a adição dos extratos antioxidantes em diferentes oncentrações.....	104

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 – Principais ácidos graxos do óleo de quiabo.....	29
Tabela 4.1 – Programação da temperatura do forno do Cromatógrafo Gasoso.....	62
Tabela 4.2 – Denominações das amostras de biodiesel etílico de soja com diferentes concentrações de extratos antioxidantes.....	70
Tabela 5.1 – Composição percentual de ácidos graxos presentes no óleo de quiabo.....	75
Tabela 5.2 – Composição Química do Biodiesel Etílico de Quiabo.....	77
Tabela 5.3 – Propriedades Físico-Químicas do biodiesel de óleo de quiabo.....	77
Tabela 5.4 – Períodos de Indução do biodiesel de quiabo através das técnicas Rancimat e PetroOxy.....	80
Tabela 5.5 – Composição das amostras de BEQ, BS100 e blendas determinadas por CG-MS.....	82
Tabela 5.6 – Propriedades de Fluxo a Frio dos biodieseis e blendas.....	85
Tabela 5.7– Valores de estabilidade oxidativa dos biodieseis e blendas pelas técnicas Rancimat, PetroOxy e PDSC.....	87
Tabela 5.8 - Índice de Oxidação (I.O) para os biodieseis e blendas.....	88
Tabela 5.9 – Cálculo da percentagem da atividade antioxidante e do EC50 dos extratos vegetais.....	94
Tabela 5.10 – Período de Indução e Tempo de Indução Oxidativa a altas pressões analisados pela PetroOxy e PDSC, respectivamente, do biodiesel etílico de soja aditivado com os extratos vegetais.....	99
Tabela 5.11 – Períodos de Indução do biodiesel etílico de soja aditivado com os extratos vegetais obtidos através do Rancimat.....	103
Tabela 5.12 – Fator de Estabilização do biodiesel etílico de soja aditivado com extratos naturais calculado pela técnica Rancimat.....	105
Tabela 5.13 – Comparativo da viscosidade do biodiesel etílico de soja puro e aditivado com os extratos antioxidantes na concentração de 2.000 ppm.....	106

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA – Atividade Antioxidante;
ANP – Agência Nacional de Petróleo Gás Natural e Biocombustíveis;
AOCS – American Oil Chemists' Society;
ASTM – American Society for Testing and Materials;
BEQ – Biodiesel Etílico de Quiabo;
BS100 – Biodiesel Etílico de Soja;
BSCCV – Biodiesel etílico de soja aditivado com extrato clorofórmico de chá verde;
BSECR – Biodiesel etílico de soja aditivado com extrato etanólico da casca da romã;
BSECV – Biodiesel etílico de soja aditivado com extrato etanólico de chá verde;
BSELM – Biodiesel etílico de soja aditivado com extrato etanólico de casca do limão;
BSHCV – Biodiesel etílico de soja aditivado com extrato hexânico de chá verde;
BSQ₂₅ – Blenda 25% de biodiesel de quiabo e 75% de biodiesel de soja;
BSQ₅₀ – Blenda 50% de biodiesel de quiabo e 50% de biodiesel de soja;
CG-MS – Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa;
ECCV – Extrato Clorofórmico de Chá verde;
EECR – Extrato Etanólico da Casca da Romã;
EECV – Extrato Etanólico de Chá verde;
EELM – Extrato Etanólico da Casca do Limão;
EHCV – Extrato Hexânico de Chá verde;
EN – Norma Européia;
HPOIT – High Pressure Oxidation Induction Time (Tempo de indução oxidativa a elevadas pressões);
I.O - Índice de Oxidação;
OT – Temperatura de oxidação;
PDSC – Calorimetria Exploratória Diferencial Pressurizada;
PEFF – Ponto de Entupimento de Filtro a Frio;
PF – Ponto de Fluidez;
PI – Período de Indução;
PN – Ponto de Névoa;
PNPB – Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel;
TG – Termogravimetria.

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	18
2. OBJETIVOS GERAIS.....	21
2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	23
3.1. ÓLEOS, GORDURAS E BIODIESEL	23
3.1.1. Óleo de soja como fonte para produção de biodiesel	26
3.1.2. Óleo de Quiabo (<i>Abelmoschus esculentus</i> L.)	27
3.2. INFLUÊNCIA DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA NAS PROPRIEDADES DO BIODIESEL ...	29
3.3. PARÂMETROS DE QUALIDADE DO BIODIESEL.....	30
3.3.1 Índice de acidez	31
3.3.2 Índice de Iodo	32
3.3.3. Viscosidade.....	32
3.4. ASPECTOS RELACIONADOS À ESTABILIDADE OXIDATIVA DE ÓLEOS, GORDURAS E BIODIESEL.....	33
3.4.1. Degradação hidrolítica	33
3.4.2. Degradação oxidativa.....	34
3.5. ANTIOXIDANTES	39
3.5.1. Antioxidantes sintéticos.....	40
3.5.2. Antioxidantes naturais.....	41
3.5.3. Classificação e mecanismo de ação dos antioxidantes.....	45
3.5.4. Romã (<i>Punica granatum</i> , L.).....	47
3.5.5. CHÁ VERDE (<i>Camellia sinensis</i>).....	48
3.5.6. LIMÃO (<i>Citrus Limon</i>).....	49
3.6. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	50
3.7. MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE TÉRMICA E OXIDATIVA DE ÓLEOS, GORDURAS E BIODIESEL.....	51
4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	56
4.1. EXTRATOS ANTIOXIDANTES.....	56
4.1.1 Coleta e preparo do material vegetal	56
4.1.2. Obtenção dos Extratos.....	57
4.1.3. Avaliação da solubilidade dos extratos na matriz lipídica	57
4.2. CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS	58
4.2.1. Determinação da Atividade Antioxidante	58
4.2.2. Análise Termogravimétrica – TG dos Extratos	59
4.3. OBTENÇÃO DOS ÓLEOS.....	59
4.3.1. Óleo de Soja	59
4.3.2. Óleo de Quiabo	59
4.4. DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE ACIDEZ DOS ÓLEOS.....	60
4.5. NEUTRALIZAÇÃO DOS ÓLEOS.....	60

4.6. PERFIL CROMATOGRÁFICO DOS ÓLEOS	61
4.6.1. Esterificação do Óleo de Quiabo	61
4.6.2. Cromatografia Gasosa Acoplada ao Espectrômetro de Massa	62
4.7. SÍNTESE DE BIODIESEL ETÍLICO DE ÓLEO DE QUIABO E DE SOJA	62
4.8. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO BIODIESEL ETÍLICO DE QUIABO E DE SOJA	64
4.8.1. Espectroscopia de Absorção na região do infravermelho.....	64
4.8.2. Índice de Acidez.....	64
4.8.3. Índice de Iodo	64
4.9. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS AMOSTRAS DE BIODIESEL POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA AO ESPECTRÔMETRO DE MASSA – (CG/MS).....	65
4.10 PROPRIEDADES DE FLUXO DAS AMOSTRAS DE BIODIESEL ETÍLICO DE QUIABO E DE SOJA.....	65
4.10.1. Viscosidade Cinemática a 40 °C.....	65
4.10.2. Ponto de Névoa e Fluidez	65
4.10.3. Ponto de Entupimento de Filtro a Frio.....	66
4.11.1. Método EN 14112- Rancimat.....	66
4.11.2. Oxidação Acelerada pelo método PetroOxy.....	66
4.11.3. Calorimetria Exploratória Diferencial Pressurizada – PDSC	67
4.12. FORMULAÇÃO DAS BLENDS DE BIODIESEL DE QUIABO E DE SOJA.....	67
4.13. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE ÉSTERES ETÍLICOS DAS BLENDS DE BIODIESEL.....	68
4.14. PROPRIEDADES DE FLUXO DAS BLENDS DE BIODIESEL	68
4.15. TESTES DE OXIDAÇÃO ACELERADA DAS BLENDS DE BIODIESEL.....	68
4.16. ADITIVAÇÃO DO BIODIESEL ETÍLICO DE SOJA COM EXTRATOS ANTIOXIDANTES	69
4.17 CARACTERIZAÇÃO DO BIODIESEL ETÍLICO DE SOJA ADITIVADO COM EXTRATOS ANTIOXIDANTES.....	70
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
5.1. ÓLEO DE QUIABO.....	73
5.1.1. Rendimento da extração	73
5.1.2. Caracterização Físico-Química.....	73
5.2. BIODIESEL DO ÓLEO DE QUIABO	75
5.2.1. Determinação das características estruturais.....	75
5.2.2. Propriedades físico-químicas do biodiesel do óleo de quiabo	77
5.2.3. Estabilidade oxidativa do biodiesel do óleo de quiabo.....	79
5.3. BLENDS DE BIODIESEL DE QUIABO E SOJA.....	81
5.3.1. Constituição de ésteres etílicos	81
5.3.2. Propriedades de Fluxo das Blends	83
5.3.3. Estabilidade oxidativa do biodiesel etílico de quiabo, soja e blends.....	86
5.4. CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS ANTIOXIDANTES	90
5.4.1. Atividade Antioxidante.....	91
5.4.2. Análise Termogravimétrica dos Extratos.....	95

5.5. AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL DE SOJA ADITIVADO POR MÉTODOS DE OXIDAÇÃO ACELERADA	98
6 CONCLUSÕES.....	108
7 REFERÊNCIAS	110

**C
A
P
Í
T
U
L
O
1**

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

O Brasil, por dispor de condições apropriadas de clima e solo, apresenta extensas áreas produtivas com alta capacidade de cultivo de plantas oleaginosas, as quais ampliam as opções de fontes de matérias-primas para produção de biodiesel, tanto a partir das culturas convencionais já bastante exploradas como a soja, a palma, o algodão, a mamona e o girassol, como a partir de espécies nativas e não convencionais, tais como o babaçu e o pinhão-manso (ANP, 2011).

O governo brasileiro introduziu o biodiesel na matriz energética do país através do Programa Nacional de Produção e uso do Biodiesel (PNPB), em 2005, visando não somente o uso de uma nova forma de energia limpa, mas também a implantação de um programa de caráter social, voltado para o fortalecimento da agricultura familiar e da geração de renda através do cultivo de oleaginosas propícias ao clima de cada região. Quando se considera os fundamentos do PNPB, conclui-se que alguns objetivos não foram ainda atingidos, visto que a principal fonte de matéria-prima para a produção de biodiesel tem sido a soja, cujo cultivo exige uma infra-estrutura pouco disponível à agricultura familiar, além do fato de que biodiesel oriundo desta oleaginosa enfrenta uma forte concorrência com o setor alimentício (POUSA et al., 2007).

Neste sentido, o quiabo (*Albemoschus esculentus*) apresenta-se como uma promissora fonte de matéria-prima não-convencional para produção de biodiesel, por possuir menor impacto no setor alimentício, e uma cultura consolidada no país, devido às condições excelentes para o seu cultivo, principalmente o clima, sendo popularmente cultivado nas regiões Nordeste e Sudeste (MOTTA et al., 2000). A planta apresenta características desejáveis como ciclo rápido, custo de produção economicamente viável e resistência a pragas, além de elevados teores de óleos nas sementes (JARRET et al., 2011).

Um dos problemas técnicos associado ao uso do biodiesel como combustível é a sua baixa resistência aos processos oxidativos, decorrente dos elevados percentuais de ésteres de ácidos graxos insaturados presentes em determinadas matérias-primas, havendo a necessidade do uso de aditivos antioxidantes para a correção da estabilidade oxidativa, normatizada pelos

parâmetros da Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, ANP.

As substâncias antioxidantes podem ser originárias de fontes naturais ou sintéticas e atuam de diversas maneiras: interrompendo a cadeia de reações oxidativas, reduzindo a velocidade da oxidação e ainda suprimindo agentes catalisadores da reação oxidativa (LUZIA e JORGE, 2009).

O Brasil gasta por ano cerca de dois milhões de reais com a compra de antioxidantes sintéticos, devido a isso, pesquisas estão voltadas para a busca de compostos naturais que exibam esta propriedade funcional e tenha baixo valor agregado. Os antioxidantes naturais podem ser extraídos de diversas fontes vegetais, sendo geralmente substâncias de origem fenólica (NUNES et al., 2008). A *Camelia Sinensis*, popularmente conhecida como chá verde, apresenta dentre seus constituintes químicos os flavonóides, quercetina, miricetina, canferol e catequinas, além de taninos, ácido hidroxicinâmico e ácido hidroxibenzóico (SCHIMITZ et al., 2005). A romã e o limão também são espécies com elevados teores de compostos antioxidantes, tais como ácido ascórbico, ácido cítrico, fenólicos, antocianinas e taninos (VIUDA-MARTOS et al., 2010).

Neste contexto, este trabalho teve como objetivo explorar o óleo de quiabo, como uma fonte de matéria-prima não convencional para a obtenção de biodiesel e avaliar os parâmetros de qualidade combustíveis, tanto do biodiesel puro, como o composto por blendas de biodiesel de óleo de soja e de óleo de quiabo. Assim como avaliar a eficácia antioxidante de extratos de limão, romã e chá verde na correção da estabilidade oxidativa do biodiesel de soja, cuja estabilidade oxidativa é abaixo da estabelecida pela norma EN14112, adotada pela ANP.

C A P Í T U L O 2

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS GERAIS

Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial do óleo de quiabo como fonte alternativa para produção de biodiesel e analisar o efeito de antioxidantes naturais e sintéticos na estabilidade térmica e oxidativa do biodiesel etílico de soja.

2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os seguintes objetivos específicos fizeram-se necessários para o desenvolvimento deste estudo:

- avaliar extratos etanólicos antioxidantes de três fontes naturais, chá verde, romã e limão como aditivo antioxidante no biodiesel de soja;
- determinar o potencial antioxidante dos extratos naturais;
- investigar o comportamento térmico dos extratos antioxidantes;
- obter quimicamente e caracterizar o óleo da semente do quiabo;
- avaliar as propriedades físico-químicas do biodiesel etílico de quiabo;
- identificar a composição graxa do biodiesel etílico de soja e de quiabo e suas blendas através da cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa (CG-MS);
- analisar as propriedades de fluxo do biodiesel etílico de soja e de quiabo e suas blendas;
- investigar a estabilidade térmica e oxidativa do biodiesel e blendas de quiabo e soja pelo método EN 14112-Rancimat e por PDSC e PetroOxy.

**C
A
P
Í
T
U
L
O
3**

**FUNDAMENTAÇÃO
TEÓRICA**

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1. ÓLEOS, GORDURAS E BIODIESEL

O biodiesel é definido quimicamente como uma mistura de ésteres alquílicos de ácidos graxos, derivados de óleos vegetais ou de gorduras animais, podendo ser obtido por vários métodos, dentre os quais, a transesterificação dos triacilglicerídeos com álcoois de cadeia curta, como o metanol e etanol, na presença de um catalisador homogêneo básico, ainda é o processo industrialmente mais viável (FERRARI et al., 2005; RINALDI et al., 2007; ANP, 2011), Figura 3.1.

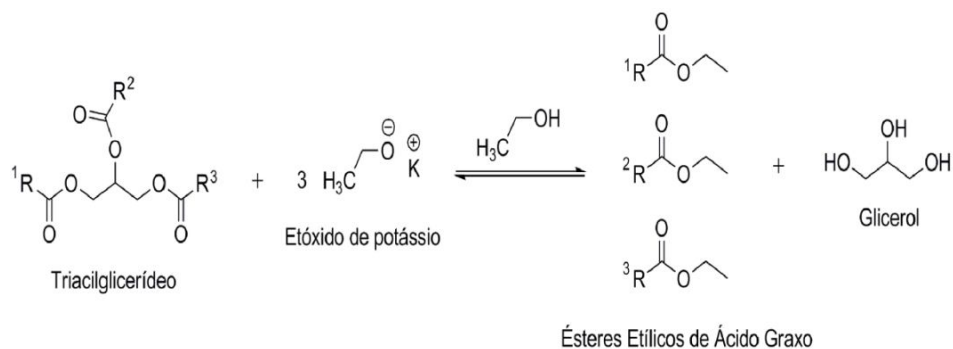


Figura 3.1 - Esquema da reação de transesterificação de um triacilglicerídeo catalisada por base.

FONTE: Adaptado de Van Gerpen (2005).

O processo global de transesterificação do biodiesel consiste basicamente de três etapas consecutivas, com reações reversíveis em que monoacilglicerídeos (MG) e diacilglicerídeos (DG) são formados como compostos intermediários. Estes compostos afetam o potencial energético deste biocombustível, bem como seus parâmetros de qualidade. Nesta perspectiva, estudos visam propor métodos que aumentem a taxa de conversão da reação, em condições que não comprometam o produto final (STAVARACHE et al., 2006; SAKA e KUSDIANA, 2001; DABDOUB e BRONZEL, 2009).

O biodiesel encontra-se registrado na Agência de Proteção Ambiental – EPA – USA como combustível e como aditivo para combustíveis, podendo ser usado puro (B100), em mistura com o diesel de petróleo num percentual de

20% (B20) ou numa proporção de aditivo de 1 a 5%. No Brasil encontra-se em vigor a obrigatoriedade da adição de 5% de biodiesel ao diesel (ANP, 2011).

O biodiesel tem todas as características combustíveis necessárias para substituir o óleo diesel, com a vantagem de ser isento de enxofre e de alguns compostos orgânicos nocivos ao ser humano. Seu caráter renovável está apoiado no fato das suas matérias-primas serem oriundas de fontes renováveis, ao contrário dos derivados de petróleo (DABDOUB, 2003).

Dentre as matérias-primas mais utilizadas para produção do biodiesel estão os óleos de soja, colza, girassol, mamona e palma, além do sebo bovino e de aves. Entre as fontes oleaginosas não convencionais que vêm sendo estudadas, destacam-se: amendoeiras, andiroba, babaçu, nabo forrageiro, dendê, buriti, coco, cumaru, óleo de peixe, amendoim, pinhão manso, karanja, microalgas, pequi, semente de papoula, arroz, gergelim, sorgo, semente do tabaco, moringa oleífera, dentre outras. Além de matérias-primas residuais, como o óleo de fritura, que tem sido considerada promissora, pelo fato do custo ser bem menor quando equiparado aos óleos vegetais *in natura* (DABDOUB e BRONZEL, 2009; ROSENHAIM, 2009).

Segundo Parente (2003), todos os óleos vegetais, gorduras animais e residuais podem ser transformados em biodiesel. No entanto, de acordo com Pinto et al. (2005), para que uma oleaginosa seja adotada na produção comercial de biodiesel deve apresentar aspectos relevantes, como:

- elevado teor de óleo por área e por período de cultivo;
- a cultura deve apresentar um balanço energético favorável;
- o preço da matéria-prima deve ser compatível com a necessidade de fornecer biodiesel com preços equivalentes ao diesel;
- o subproduto de extração do óleo deve ser aproveitado, sempre que possível, na alimentação humana ou animal;
- a cultura oleaginosa deve ser parte da rotação de culturas regionais e o biodiesel produzido deve atender as especificações vigentes.

No Brasil, segundo os dados da ANP, a produção de biodiesel concentra-se basicamente na utilização da soja, sebo bovino e algodão, Figura 3.2, contudo cada vez mais estudos vêm apresentando novas fontes de óleos e

gorduras com potencialidade para a produção de biodiesel, principalmente no que concerne as investigações de suas viabilidades produtivas e propriedades físico-químicas, de fluxo, térmicas e oxidativas, visando diversificar essa produção principalmente em termos regionais.

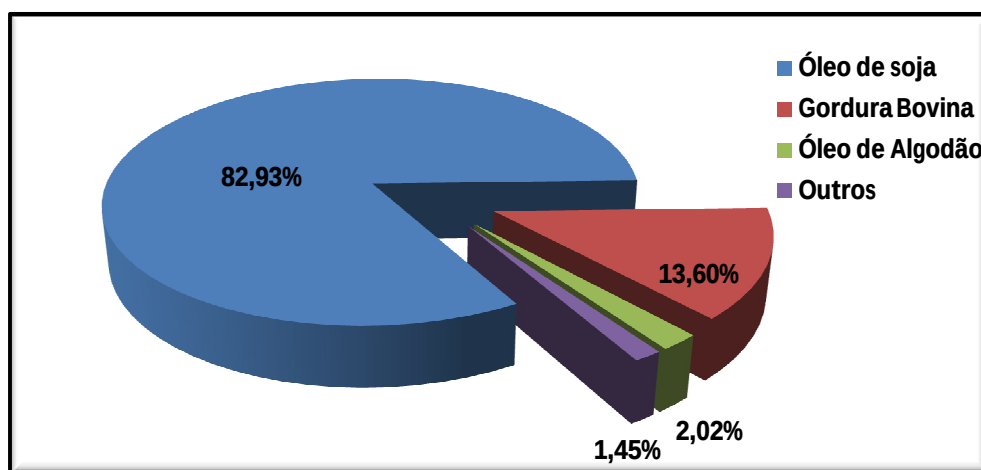


Figura 3.2 - Principais matérias-primas utilizadas para produção de biodiesel no Brasil no ano de 2011.

FONTE: ANP (2011).

Em linhas gerais, óleos e gorduras são fontes de energia importantes para a indústria, na produção de alimentos, cosméticos, glicerina, lubrificantes, carburantes, biocombustíveis, além de inúmeras outras aplicações. Quimicamente podem ser definidos como substâncias lipídicas encontradas em tecidos animais, vegetais ou com origem microbiológica. Constituem-se por uma mistura de diversos compostos químicos sendo os mais importantes os ácidos graxos e seus derivados tais como mono; di ou triacilglicerídeos, além de fosfatídeos, esteróis, ceras, hidrocarbonetos insolúveis, carotenóides, clorofila e tocoferóis. Os triacilglicerídeos, formados pela condensação de moléculas de ácidos graxos com glicerol são largamente majoritários na constituição dessa mistura, podendo chegar a valores superiores a 95% em massa. A relação entre a quantidade dessas classes de compostos e os tipos de ácidos graxos dos quais são formados, depende da fonte do óleo ou da gordura e da região onde foram produzidas (MORETTO e FETT, 1998; TURATTI, 2002).

Os ácidos graxos predominantes na maioria das moléculas de triacilglicerídeos são os ácidos saturados, tetradecanóico (C14:0);

hexadecanóico (C16:0); octodecanóico (C18:0) e eicosanóico (C20:0) e os insaturados, hexadecenóico (C16:1); 9-octadecenóico (C18:1); 9,12-octadecadienóico (C18:2) e 9,12,15-octadecatrienóico (C18:3). O tamanho da cadeia hidrocarbônica dessas moléculas e seus respectivos graus de insaturações estão diretamente relacionados com as propriedades físicas, químicas, térmicas e oxidativas dos materiais lipídicos.

Os principais óleos vegetais e gorduras animais explorados mundialmente para produção de biodiesel e seus respectivos componentes graxos estão representados na Figura 3.3.

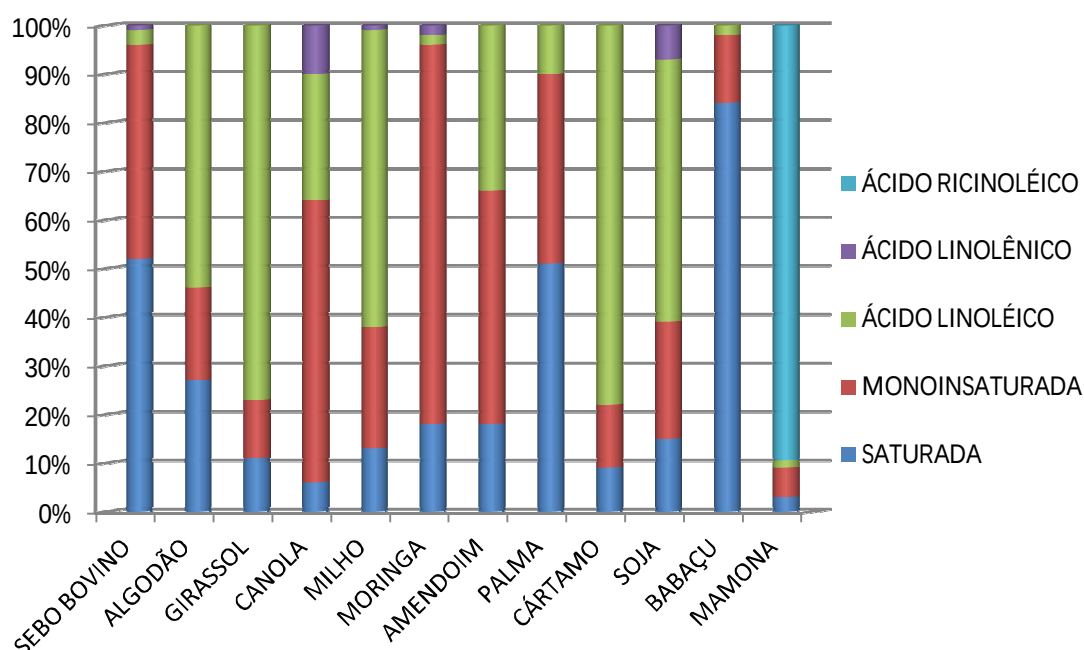


Figura 3.3 - Composição em ácidos graxos dos principais óleos e gorduras.

FONTE: Moretto e Fett, (1998); Shaidl, (2004); Gunstone et al., (2007).

3.1.1. Óleo de soja como fonte para produção de biodiesel

A soja (*Glycine Max*) é uma planta pertencente à classe Dicotyledoneae e família Leguminosae. Constitui-se uma das mais antigas culturas agrícolas desenvolvidas no mundo, tendo seu cultivo iniciado na China há cerca de 5.000 anos. Atualmente, a soja domina o mercado mundial nos segmentos de óleo e proteína, sendo o Brasil responsável por cerca de 26 % da produção mundial, com a safra de 2009/2010 ao redor de 68 milhões de toneladas (CONAB), ocupando, desde 2004, o lugar de segundo maior produtor e exportador mundial de soja em grãos, farelo e óleo (ABIOVE, 2010).

O grão da soja é constituído principalmente por proteínas, lipídios, carboidratos, cinzas e aminoácidos, com teor de óleo nas sementes entre 15 a 20%, composto majoritariamente por triacilglicerídeos, como os ácidos graxos palmítico (11%), esteárico (4%), oléico (24%), linoléico (54%) e linolênico (7%) (CANDEIA, 2008).

A soja atualmente é a única oleaginosa com escala produtiva suficiente para produzir de imediato o biodiesel. Isto porque cerca de 90% da produção brasileira de óleo é derivado dessa matéria-prima. Entretanto, segundo Freitas (2004), apesar da produção de soja ser abundante, o atual nível de suprimentos não a torna ainda apta a fornecer o volume de óleo suficiente para abastecer esse novo segmento do mercado.

O biodiesel derivado do óleo de soja, devido sua alta concentração de ésteres de ácidos graxos insaturados, apresenta propriedades físico-químicas e fluidodinâmicas bastante desejáveis. Contudo, apresenta limitações nas propriedades referentes à estabilidade térmica e oxidativa. Encontram-se expostos na literatura alguns trabalhos referentes às características do biodiesel de soja, bem como estudos voltados para a melhoria de suas propriedades térmicas e oxidativas. A exemplo de Candeia e colaboradores (2009), que analisaram a influência da concentração do biodiesel metílico e etílico de soja (5, 15, 25 e 50%), em misturas com o diesel, observando uma variação não muito significativa em algumas propriedades como aumento da viscosidade e a diminuição da volatilidade das misturas, assim como diminuição nas emissões de CO₂ e SO_x, variações essas atribuídas ao aumento da cadeia e ao aumento da concentração de biodiesel na mistura (biodiesel/diesel).

3.1.2. Óleo de Quiabo (*Abelmoschus esculentus* L.)

O quiabeiro é uma planta perene arbustiva, de porte ereto e caule semilenhoso, que pode atingir três metros de altura (FILGUEIRA, 2000). Pertencente à família das Malváceas constitui-se como uma olerícola de ciclo vegetativo rápido, de fácil cultivo e alta rentabilidade (COSTA et al., 1981).

O quiabo é uma cultura dispersa pela África, Ásia, América e Europa (CALISIR et al., 2005). Os principais produtores são a Índia, Estados Unidos e

Europa (CAMCIUC et al., 1998). Apresenta-se bastante difundido no Brasil, principalmente nas regiões Nordeste e Sudeste, onde encontra condições climáticas excelentes para seu cultivo. Os maiores estados produtores são: Minas Gerais, São Paulo, Sergipe, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Bahia e Goiás, representando 85% da produção nacional (AGROJURIS, 2010). A planta apresenta características desejáveis como custo de produção economicamente viável, resistência às pragas e alto valor alimentício e nutritivo (MOTA et al, 2000).

No Brasil, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, a produção de quiabo em 2006 foi de 116.990 toneladas. Desta produção, apenas 15.021 toneladas foram utilizadas para fins alimentícios e outra pequena parcela alocada para outras finalidades, como alimentação animal, transformação e beneficiamento do vegetal. Vale ressaltar que como parte das sementes colhidas são destinadas para fins de plântulas e regeneração, grandes quantidades dessas sementes são descartadas, classificadas como impróprias para fins de mudas (ADELAKUN et al., 2009).

O quiabo, em diversos estudos, têm se mostrado como uma planta potencialmente útil, cujo cultivo tem sido justificado frente às inúmeras aplicabilidades de todas as suas partes. O fruto imaturo apresenta propriedades medicinais e terapêuticas, bem como efeito laxante. A mucilagem da vagem deste vegetal é constituída de alto teor de fibras, da qual se tem produzido sacos e cordas, e do seu tronco fabricado papel. A sua mucilagem ainda é utilizada para fins de lubrificação e produção de biogás (WATT, 1908; MARTIN, 1982; DAHIYA E VASUDEVAN, 1987).

As sementes de quiabo apresentam-se como uma rica fonte de proteína e óleo. São fontes potenciais de triacilglicérides, fitoesteróis, fosfolípidios e compostos fenólicos (CAMCIUC et al., 1998; HOLSER e BOST, 2004). Estudos demonstraram uma variação entre 15-20% no teor de óleo nas sementes (ANDRAS et al., 2005; ANWAR et al., 2011). Vale salientar que esta variação, bem como algumas propriedades químicas do óleo, depende tanto da variedade da planta, quanto do clima onde a mesma se desenvolveu.

Em relação a sua composição graxa, o óleo extraído da semente do quiabo apresenta diferentes proporções de seus constituintes dependendo da região e variedades, mas sempre com predominância de ácidos graxos

insaturados, com destaque para os ácidos oléico e linoléico e concentrações inferiores, mas bastante proeminentes de ácidos graxos saturados, principalmente o ácido palmítico (HOLSER E BOST, 2004). A Tabela 3.1 apresenta os principais componentes químicos do óleo de quiabo.

Tabela 3.1 - Principais ácidos graxos do óleo de quiabo.

Ácido Graxo	Composição de ácidos graxos (%)	
	Holser e Bost, 2004	Jarret et al., 2011
Mirístico (14:0)	0,1 - 0,4	0,31
Palmítico (16:0)	17 – 27	30,42
Palmitoléico (16:1)	0,1 - 0,7	0,39
Estearico (18:0)	1 - 4,7	3,93
Oléico (18:1)	15 – 31	21,08
Linoléico (18:2)	47 – 64	37,78
Linolênico (18:3)	0 - 0,7	0,177

A literatura é bastante controversa e deficiente de informações que caracterizam o óleo de quiabo quanto aos seus aspectos térmicos e oxidativos. Isso porque sua composição apresenta característica de dualidade, pois há uma predominância de ácidos graxos insaturados, que pode conferir alta susceptibilidade à oxidação; e em contrapartida há a presença de quantidades significativas de compostos polifenólicos, que podem promover ação antioxidante (SHUI E PENG, 2004).

3.2. INFLUÊNCIA DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA NAS PROPRIEDADES DO BIODIESEL

O perfil dos ésteres de ácidos graxos que compõem o biodiesel corresponde aos componentes graxos do óleo que o originou, representando o principal fator que influencia as propriedades deste combustível.

Ramos e colaboradores (2009) investigaram a influência da composição da matéria-prima sobre a qualidade do biodiesel derivado de dez óleos vegetais refinados. Alguns parâmetros críticos, como a estabilidade à oxidação, índice de cetano, valor de iodo e ponto de entupimento de filtro a frio foram correlacionados com a composição de ésteres do biodiesel, de acordo com

dois parâmetros: grau de insaturação e comprimento da cadeia. Onde foi constatado que baixos valores de estabilidade oxidativa e índice de cetano estão associados com maiores quantidades de componentes insaturados, principalmente linoléico e linolênico. Por outro lado, o biodiesel rico em ésteres saturados de cadeia longa apresenta elevadas propriedades de fluxo.

Rodrigues e Cardoso (2006) correlacionaram as propriedades de fluxo com a estrutura química de diversos ésteres presentes em misturas de amostras de biodiesel, e constataram que a temperatura de cristalização diminui com o grau de insaturação das amostras: estearato de metila > oleato de metila > linoleato de metila > linolenato de metila. Em relação à viscosidade em temperaturas acima de 30 °C, os autores identificaram a seguinte ordem crescente: linolenato, linoleato, estereato e oleato, que foi explicado a partir da dificuldade de empacotamento dos compostos insaturados.

Vasconcelos (2009) avaliou as flutuações nos parâmetros de conformidade de misturas binárias de biodiesel etílico de soja, milho, algodão, mamona e babaçu, quanto aos seus parâmetros reológicos, fluidodinâmicos, oxidativos e carburantes, apontando que as amostras estudadas apresentaram estabilidade termo-oxidativa em sentido inverso ao teor de ésteres dos ácidos graxos linoléico e linolênico Soja<Algodão<Milho<Babaçu<Mamona. Essa mesma tendência foi apresentada pelas misturas, conforme a natureza e predominância dos ésteres graxos. A análise de fluxo mostrou correspondência entre o grau de insaturação das cadeias graxas dos ésteres com os valores de pontos de fluidez, névoa e entupimento de filtro a frio, de modo que misturas com excesso de ésteres saturados apresentaram baixa fluidez.

3.3 PARÂMETROS DE QUALIDADE DO BODIESEL

A qualidade do biodiesel pode sofrer variações conforme as estruturas moleculares dos seus ésteres constituintes ou devido à presença de contaminantes oriundos da matéria-prima, do processo de produção ou formadas durante o seu armazenamento (LÔBO et al., 2009).

Assim, para introdução do biodiesel na matriz energética é preciso estabelecer padrões de qualidade de forma a fixar teores limites dos contaminantes para não prejudicar a queima, o desempenho, a integridade do

motor e a segurança no transporte e manuseio. Devem ser monitoradas também possíveis degradações durante o processo de estocagem. Estes parâmetros estão associados a características químicas do combustível, que podem ser avaliadas através de métodos físico-químicos, fluidodinâmicos, espectroscópicos, térmicos e oxidativos (LÔBO et al., 2009).

A especificação brasileira é similar à européia e à americana, com algumas flexibilizações para atender as características de matérias-primas nacionais. Esta especificação brasileira foi editada em portaria pela ANP, órgão responsável por estabelecer padrões de comercialização, distribuição, qualidade e fiscalização dos combustíveis no Brasil.

3.3.1 Índice de acidez

O índice de acidez está diretamente relacionado à quantidade de ácidos graxos livres presentes no óleo, gordura ou biodiesel e caracteriza o estado de conservação destes materiais. Decorre da hidrólise parcial dos triacilglicerídeos, podendo variar conforme sua natureza, qualidade da fonte e do processamento e as condições de armazenagem do material lipídico. A decomposição dos triacilglicerídeos é acelerada por fatores como aquecimento e luz e a rancidez é quase sempre acompanhada pela formação destes ácidos graxos livres (MORETTO e FETT, 1998).

Elevados índices de acidez têm um efeito bastante negativo sobre a qualidade do óleo, a ponto de torná-lo impróprio para a alimentação humana ou até mesmo para fins carburantes. Além disso, a pronunciada acidez dos óleos pode catalisar reações intermoleculares dos triacilglicerídeos, formando produtos indesejáveis durante o processo de transesterificação, ao mesmo tempo em que afeta a estabilidade térmica e oxidativa do combustível na câmara de combustão e age corrosivamente sobre os componentes metálicos do motor (KNOTHE, 2006). Os testes para índice de acidez fazem parte da norma que regulamenta o biodiesel. A ANP especifica um valor limite de 0,5 mg KOH g⁻¹ de amostra.

3.3.2 Índice de Iodo

O índice de iodo é o método convencional utilizado para determinar o grau de insaturações de óleos, gorduras e biodiesel. O método baseia-se no tratamento da amostra com halogênios em excesso, que reagem por adição às duplas ligações. Os halogênios não reagidos são então titulados com tiosulfato de sódio e o resultado é mensurado pela quantidade de iodo por 100 g de amostra (DANTAS, 2010).

A presença de insaturações não tem apenas efeito nos valores de densidade e de viscosidade, mas também na estabilidade térmica e oxidativa do biodiesel (LÔBO et al., 2009). Deste modo, o índice de iodo, por ser um número empírico e não quantitativo, desponta apenas como um indicativo do potencial de um material lipídico à oxidação, sendo, contudo insuficiente por diversos fatores catalíticos externos para predizer a sua estabilidade.

3.3.3. Viscosidade

A viscosidade é um parâmetro físico que expressa a resistência de um líquido ao escoamento e está diretamente associada ao tamanho das cadeias carbônicas, ao número de insaturações e das conformações presentes nos ácidos graxos e ainda às interações intermoleculares e intramoleculares, como forças de Van der Waals, existente entre as moléculas (SHU et al., 2007).

Este parâmetro aumenta, no caso do biodiesel, quanto mais longa e saturada for a cadeia dos ácidos graxos que o origina, pois maior será a superfície de interação entre as moléculas, com a intensificação das forças de interação do tipo London. Em contrapartida, ácidos graxos com insaturações em sua cadeia apresentam empacotamento dificultado devido às conformações existentes, geralmente *cis*, que diminuem a área de contato entre as moléculas e as interações da força de dispersão, diminuindo a agregação molecular e por consequência, a viscosidade (VASCONCELLOS, 2009).

Os sabões residuais, bem como os glicerídeos não reagidos (mono, di e triacilglicerídeos) e os produtos da degradação oxidativa do biodiesel, também são fatores que aumentam sua viscosidade. Dessa forma, o monitoramento destes contaminantes pode ser determinado indiretamente através do

parâmetro de viscosidade cinemática a 40 °C. A ANP, em suas especificações, estipula uma faixa de valor limite de 3,0 a 6,0 mm² s⁻¹ (LÔBO et al., 2009)

Um combustível que apresente uma alta viscosidade atomizará com menor eficiência, e o motor terá mais dificuldade na partida. Já uma baixa viscosidade poderá não suprir uma lubrificação adequada aos êmbolos, cilindros e injetores do motor (TATER, 2006).

3.4. ASPECTOS RELACIONADOS À ESTABILIDADE OXIDATIVA DE ÓLEOS, GORDURAS E BIODIESEL

Com a elevação da demanda do biodiesel e de sua capacidade de produção, crescente atenção tem sido dada aos efeitos da oxidação na qualidade do biodiesel durante o seu armazenamento. O biodiesel é bastante susceptível à oxidação quando composto majoritariamente de ésteres de ácidos graxos insaturados e quando exposto ao ar e a fatores catalíticos extrínsecos, como temperatura, luz, presença de metais, dentre outros.

Essa instabilidade do biodiesel pode dar origem a sedimentos, formação de gomas e escurecimento do combustível, que são responsáveis por diversos problemas operacionais do motor, como formação de depósitos na câmara de combustão e em outros componentes, entupimento dos bicos injetores e filtros de combustível. Além disso, durante o processo oxidativo são originados uma ampla variedade de compostos como alcoóis, aldeídos, peróxidos e ácidos orgânicos, que são responsáveis pelo aumento da acidez do combustível e corrosão de suas peças metálicas (JAIN e SHARMA, 2010).

A degradação do biodiesel, bem como dos demais compostos graxos pode ser ocasionada por oxidação, hidrólise, polimerização, pirólise e outros processos (VELASCO et al., 2004), sendo a rancificação hidrolítica e oxidativa as mais relatadas na literatura.

3.4.1. Degradação hidrolítica

O biodiesel apresenta-se potencialmente susceptível à degradação hidrolítica, sendo que a presença de água e a contaminação do biodiesel com glicerol e mono e diacilglicerídeos (intermediários da reação de

transesterificação), têm sido apontadas como as principais causas da ocorrência deste tipo de rancificação (KNOTHE, 2007), uma vez que estes compostos polares apresentam a propriedade de se emulsificar.

A degradação hidrolítica pode ocorrer através de processo bioquímico (hidrólise enzimática) ou por processo químico (hidrólise não enzimática).

A hidrólise enzimática ocorre através da ação de lipases, presentes em grãos oleaginosos e alimentos, bem como originados de processos microbianos. Estas enzimas agem hidrolisando triacilglicerídeos ou ésteres, produzindo os ácidos graxos livres e o glicerol (MORETTO e FETT, 1998).

A hidrólise não enzimática ocorre devido à presença de água e calor, que são originados principalmente das más condições de processamento e/ou estocagem dos óleos e biodiesel, formando-se principalmente, os ácidos graxos livres e os mono e diacilglicerídeos, responsáveis pelo aumento da acidez, e produzindo ainda em menor quantidade metilcetonas e lactonas, que caracterizam os aromas desagradáveis do ranço (MORETTO; FETT, 1988; O' BRIEN, 1998).

3.4.2. Degradação oxidativa

A oxidação lipídica é um fenômeno espontâneo e inevitável, com implicações diretas no valor comercial e nutricional dos óleos, bem como nos parâmetros de qualidade do biodiesel (SILVA et al., 1999).

Os processos oxidativos de óleos, gorduras e biodiesel dependem de mecanismos reacionais diversos, sendo influenciados principalmente pela composição de seus ácidos graxos, no que se refere ao número e à natureza das insaturações presentes, e por diversos fatores catalíticos, tais como: energia térmica, formas de processamento, tipo e concentração de oxigênio do meio, presença de ácidos graxos livres, mono e diacilgliceróis, radiação ultravioleta, umidade, íons metálicos de transição, peróxidos, compostos oxidados termicamente, pigmentos e antioxidantes (SILVA et al., 1999; CHOE e MIN, 2006; DANTAS et al., 2011).

A degradação oxidativa não ocorre espontaneamente com ácidos graxos saturados, já que a formação de radicais livres é energeticamente desfavorável. Em contrapartida, a presença de duplas ligações na cadeia

diminui a energia necessária para a ruptura homolítica das ligações C-H nas posições alílicas e *bis*-alílica viabilizando sua oxidação (BOBBIO e BOBBIO, 2001).

Variações no número, posição e geometria das duplas ligações afetam significativamente a taxa de oxidação, sendo esta mais rápida em ácidos graxos com maiores valores de insaturações (NAWAR, 1996; CHOE & MIN, 2006). A presença de ácidos graxos livres também acelera o processo oxidativo, uma vez que estes oxidam mais rapidamente que os acilgliceróis correspondentes. Além disso, quando presentes em grandes quantidades, os ácidos graxos livres podem facilitar a incorporação de traços de metais dos equipamentos ou dos tanques de estocagem (NAWAR, 1998).

Outro fator que também eleva a taxa de oxidação lipídica é o aumento da temperatura, pois esta influencia a relação entre a quantidade e a pressão parcial de oxigênio no meio (NAWAR, 1998).

Os lipídios podem ser oxidados de diferentes formas, em função do meio em que são expostos e dos agentes catalisadores. Os mecanismos de oxidação mais conhecidos são a autooxidação, a oxidação enzimática e a fotoxidação.

3.4.2.1. Autooxidação

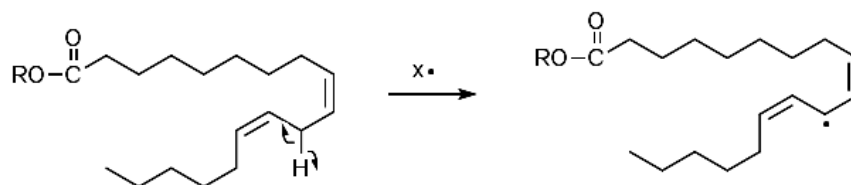
A autooxidação é o principal mecanismo de oxidação lipídica, a qual está associada à reação do oxigênio tripleto ($^3\text{O}_2$) com ácidos graxos insaturados. Trata-se de uma reação com baixa energia de ativação, bastante complexa, que abrange um grande número de reações interrelacionadas, não sendo significativamente inibida pela diminuição da temperatura de armazenamento. A reação envolve a formação de radicais livres e pode ocorrer na ausência de luz (COSGROVE et al., 1987; PORTER, 1995; ARAÚJO, 2004).

A autooxidação ocorre por uma série de reações categorizadas como: iniciação, propagação e terminação. A ocorrência das etapas de iniciação e propagação depende fundamentalmente da facilidade com que os hidrogênios alílicos e/ou *bis*-alílicos das cadeias dos ácidos graxos ou ésteres podem ser abstraídos. Isto vai depender da reatividade destes elementos, pois estudos já evidenciaram diferenças significativas na energia de dissociação destes

hidrogênios em relação às suas posições às duplas ligações. A exemplo, dos hidrogênios contido no grupo metilênico saturado, metilênico alílico e *bis*-alílico do linoleato, que apresentam energia de dissociação de 100, 75 e 50 kcal, respectivamente (GUNSTONE, 2004).

A etapa de iniciação é caracterizada pela formação de radicais livres provenientes das moléculas lipídicas, contudo a natureza dos iniciadores desta etapa ainda não se encontra totalmente esclarecida, mas sabe-se que hidroperóxidos originados através de más condições de estocagem e/ou processamento dos produtos, bem como a presença de metais, temperatura e radiação são considerados os principais responsáveis pelo desencadeamento destas reações (SHAHIDI, 2004).

Dessa forma, a etapa inicial da reação de autoxidação, representada na Figura 3.4, ocorre através da remoção do átomo de hidrogênio do grupo metileno ($-\text{CH}=\text{CH}- \rightarrow -\text{CH}=\text{C}\cdot-$), a partir de iniciadores ($\text{X}\cdot$), como os radicais alquil, alcoxil, hidroxil, peróxido, além de hidroperóxido e clivagens térmicas e fotoquímicas (KOLAKOWSKA, 2003; ARAÚJO, 2004).



Onde: $\text{X}\cdot$ = iniciadores

Figura 3.4 - Etapa de iniciação da reação de autoxidação do éster linoleato de etila.
FONTE: Adaptado de Schneider et al. (2008).

Na etapa de propagação, representada na Figura 3.5, os radicais alquil formados na etapa de iniciação reagem muito rapidamente com o oxigênio molecular formando os peróxi-radicais ($-\text{CH}=\text{COO}\cdot-$). Esses radicais são suficientemente reativos para conseguir abstrair um hidrogênio da molécula lipídica para formar hidroperóxido e um novo radical lipídico (SHAHIDI, 2004). Os novos radicais reagem com o oxigênio e a sequência de reações é repetida desencadeando um processo autocatalítico (NAWAR, 1996; KOLAKOWSKA, 2003).

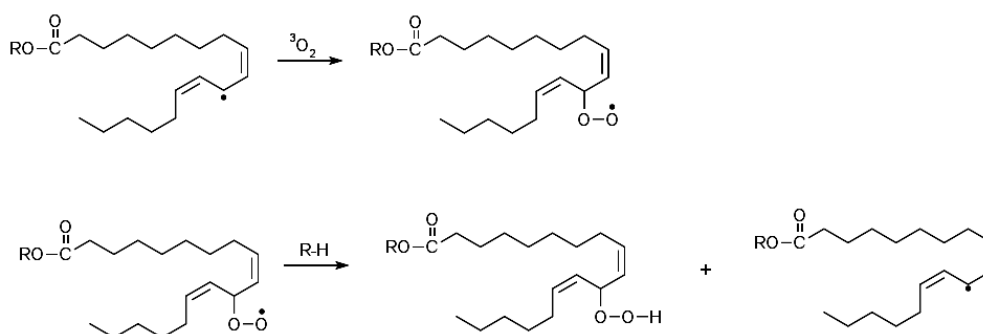


Figura 3.5 - Etapa de propagação da reação de autooxidação do éster linoleato de etila.
FONTE: Adaptado de Schneider et al. (2008).

Durante a fase inicial de oxidação (iniciação e propagação da reação) a concentração de hidropéroxidos permanece muito baixa no meio, até um determinado período de tempo, conhecido como período de indução. Este representa o período de estabilidade à oxidação de ácidos graxos do óleo ou biodiesel sob condições de estresse. O final deste período é marcado pelo aumento súbito na concentração dos hidropéroxidos, indicando que o material atingiu um ponto crítico de oxidação (JAIN e SHARMA, 2010). Neste sentido a propagação é considerada a etapa determinante da reação.

A etapa de terminação, Figura 3.6, ocorre quando os radicais reagem entre si formando produtos não radiculares. Os peróxidos são clivados e rearranjados formando compostos de oxidação secundários, epóxidos, voláteis ou não-voláteis, como os aldeídos, cetonas, éteres, alcanos e polímeros (SHAHIDI, 2004; DANTAS et al., 2011). Estes compostos são responsáveis pelo aumento da acidez, bem como da viscosidade do material.

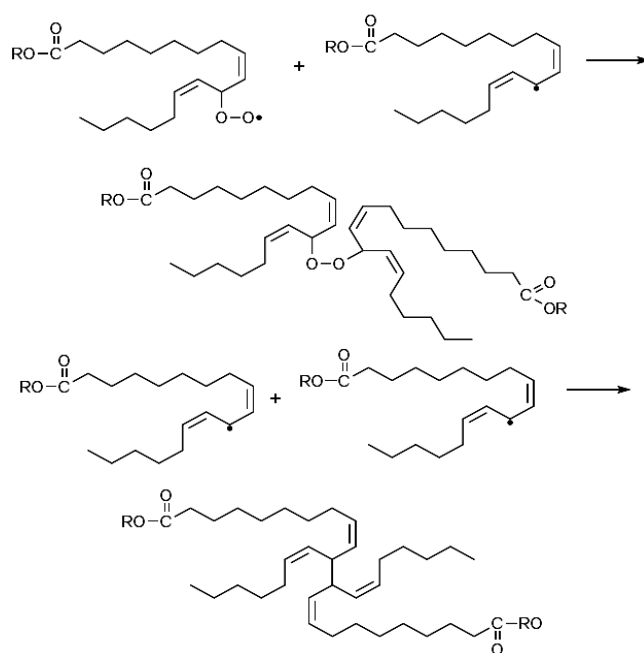


Figura 3.6 - Etapa de terminação da reação de autoxidação do éster linoleato de etila mostrando a formação de dímero.

FONTE: Adaptado de Schneider et al. (2008).

3.4.2.2. Fotoxidação

A fotoxidação é um processo oxidativo que ao contrário da autoxidação, ocorre necessariamente na presença de luz e com a participação do oxigênio no estado singleto. A presença de fotossensores nos tecidos animal e vegetal, como a mioglobina, hemoglobina, riboflavina e clorofila, na presença de luz e oxigênio, dá início ao processo de transferência de energia, intrínseco no desencadeamento da reação fotooxidativa (NAWAR, 1998; GORDON, 2001).

Estes fotossensores absorvem energia luminosa na região do visível próximo do ultravioleta (UV), tornando-se eletronicamente excitados. Nessa situação, transferem energia para o oxigênio tripleto ($^3\text{O}_2$), o qual se excita sofrendo inversão do spin de um dos elétrons dos orbitais não ligantes passando a ter dois elétrons paralelos em um mesmo orbital vazio, apresentando dessa forma, uma alta carga de energia eletrostática, resultando em um estado excitado, o oxigênio singleto ($^1\text{O}_2$) (KOLAKOWSKA, 2003; SHAHIDI, 2004). Esse oxigênio não é um radical livre, mas uma espécie altamente eletrofílica, que reage espontaneamente com as substâncias de alta densidade de elétrons, como as insaturações presentes nos ácidos graxos e nos ésteres.

Diferente da autooxidação, a fotoxidação não envolve a formação de radicais livres, independe da pressão de oxigênio, e não apresenta período de indução. O oxigênio singleto sendo 1500 vezes mais reativo do que o oxigênio no estado tripleto reage diretamente com duplas ligações por adição formando o hidroperóxido (ARAÚJO, 2004). Comumente a formação do hidroperóxido do ácido graxo é acompanhada por mudanças na configuração da dupla ligação de (Z) para (E), Figura 3.7. Tal alteração faz com que ocorra desestabilização por ressonância interna. Os hidroperóxidos formados na fotoxidação são diferentes dos formados na autooxidação e, por degradação, originam aldeídos, álcoois, e hidrocarbonetos (ARAÚJO, 2004; DANTAS, 2010).

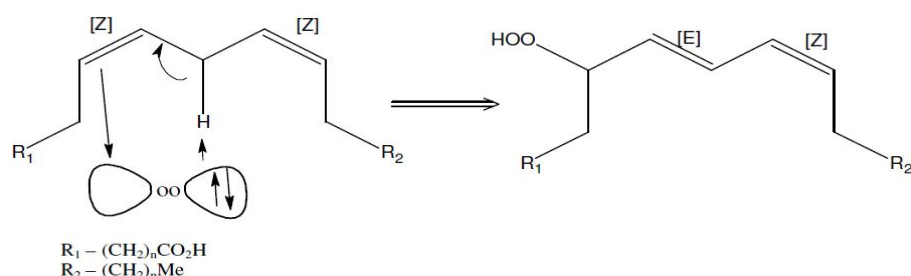


Figura 3.7 - Proposta de mecanismo da fotoxidação em moléculas de ácidos graxos insaturados.

FONTE: Adaptado de Shaidi, 2004.

3.4.2.3. Oxidação enzimática

A oxidação por catálise enzimática ocorre principalmente através da ação da lipoxigenase. Esta enzima atua sobre os ácidos graxos poli-insaturados, catalisando a adição de oxigênio à cadeia hidrocarbonada durante o processamento e armazenamento. Como produto têm-se a formação de peróxidos e hidroperóxidos com duplas ligações conjugadas, os quais podem envolver-se em diferentes reações degradativas (GUNSTONE, 2005).

3.5. ANTIOXIDANTES

A oxidação de lipídios é uma reação que não pode ser totalmente cessada e que, uma vez iniciada, ocorre em alta velocidade, podendo seu início ser retardado pela adição de antioxidantes (MASUCHI et al., 2008).

Os antioxidantes são substâncias que em pequenas concentrações, em comparação ao substrato oxidável, retardam ou previnem significativamente o início ou a propagação da cadeia de reações de oxidação (SHAHIDI, 2004). Atuando de forma geral tanto na redução de radicais livres, quanto na inibição da lipoperoxidação e/ou quelação de íons metálicos (HALLIWELL et al., 1995; MOREIRA; MANCINI FILHO, 2003).

Os antioxidantes podem ser divididos em duas classes: a dos com atividade enzimática e a dos sem essa atividade. Na primeira, estão os compostos capazes de bloquear a iniciação da oxidação, ou seja, as enzimas que removem as espécies reativas ao oxigênio. Na segunda classe, estão moléculas que interagem com as espécies radicalares e são consumidas durante a reação. Nesta classificação, incluem-se os antioxidantes naturais e sintéticos como os compostos fenólicos (PIETTA, 2000).

3.5.1. Antioxidantes sintéticos

A origem das substâncias antioxidantes pode ser tanto sintética quanto natural. Os antioxidantes sintéticos atuam inibindo as etapas de iniciação e propagação da reação de oxidação. Em sua maioria apresentam estrutura fenólica e o inconveniente de serem voláteis e facilmente decompostos em altas temperaturas (ANDREO e JORGE, 2006).

Os antioxidantes mais conhecidos e utilizados desta classe são o butil-hidroxianisol (BHA), o butil-hidroxitolueno (BHT), o terc-butilhidroquinona (TBHQ) e o propil Galato (PG), apresentados na Figura 3.8.

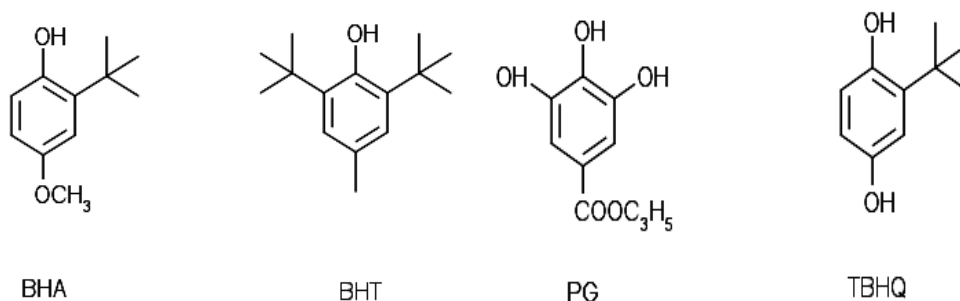


Figura 3.8 - Estruturas químicas dos principais antioxidantes sintéticos usados comercialmente.

A estrutura fenólica bem como os grupos substituintes destes compostos relaciona-se diretamente com suas atividades antioxidantes. Os antioxidantes sintéticos geralmente são utilizados em pequenas concentrações, apresentando diferentes solubilidades e efeitos. O efeito de um antioxidante pode depender de uma variedade de fatores, incluindo os tipos de ácidos graxos proveniente do óleo ou gordura onde o mesmo será empregado, a quantidade de antioxidantes de ocorrência natural presentes na matriz graxa, o período de estocagem, dentre outras condições (KNOTHE, 2007).

Neste sentido, em diversos estudos realizados verificou-se que o BHA apresenta-se como um antioxidante mais efetivo na supressão da oxidação em gorduras animais que em óleos vegetais. Apresenta pouca estabilidade frente a elevadas temperaturas, mas é particularmente efetivo no controle da oxidação de ácidos graxos de cadeia curta, como os contidos em óleo de coco e palma. O BHT tem propriedades similares ao BHA, sendo que ao invés de agir como sequestrante de radicais peróxidos, ele também age como sinergista, ou regenerador de radicais. O TBHQ é considerado, em geral, mais eficaz em óleos vegetais que os supracitados. Em relação à gordura animal, é tão efetivo quanto o BHA e mais efetivo que o BHT ou o PG. Apresenta ainda excelente sinergia com o ácido cítrico em óleos vegetais (RAMALHO e JORGE, 2006).

Ferrari e Souza (2009) avaliaram a atividade antioxidante do BHA, BHT e TBHQ adicionado ao biodiesel de girassol através de técnicas de oxidação acelerada, Rancimat e estufa de Schaal. Como resultado foi verificado que, para os mesmos tempos de exposição ao calor, as amostras acrescidas dos antioxidantes BHT e TBHQ apresentaram índices de peróxido e valores de absorbância a 232 nm menores que o BHA. Observou-se também que no Rancimat os períodos de indução das amostras cresceram no sentido BHA<BHT<TBHQ. Apenas a amostra contendo TBHQ apresentou período de indução maior que o limite estabelecido pela ANP.

3.5.2. Antioxidantes naturais

A determinação da atividade antioxidante de produtos naturais teve início com Chipault et al. (1952) em especiarias. No entanto, o interesse efetivo pelos antioxidantes naturais teve início na década de 80 diante da

comprovação de efeitos maléficos causados por doses elevadas de BHT, BHA e TBHQ quando adicionadas aos alimentos (DURÁN e PADILLA, 1993).

Como consequência, ênfase foi dada à identificação e purificação de novos compostos com atividade antioxidante, provenientes de fontes naturais, que pudessem atuar sozinhos ou sinergicamente com outros aditivos, como alternativa para prevenir a deterioração oxidativa de alimentos e outros produtos e limitar o uso dos antioxidantes sintéticos.

As substâncias presentes nas fontes naturais que são capazes de agir como antioxidantes são vitaminas, compostos nitrogenados (alcalóides, aminoácidos, peptídeos) e compostos fenólicos. Dentre os mais importantes, sob o ponto de vista tecnológico, podem ser citados os tocoferóis, os carotenóides, alguns ácidos orgânicos como, ácido cítrico, ácido ascórbico, e os flavonóides (AMAROWICZ et al., 2004; LUZIA e JORGE, 2010).

As substâncias fenólicas são um dos mais abundantes e importantes grupos que ocorrem nas plantas que contribuem para as propriedades antioxidantes e sensoriais de frutas, mel, bebidas e vegetais. São fruto do metabolismo secundário das plantas (MOURE et al., 2001), podendo ser encontradas em formas livres ou complexadas a açúcares e proteínas. Estas substâncias são basicamente divididas em flavonóides (polifenóis) e não-flavonóides (fenóis simples ou ácidos).

Os flavonóides constituem uma larga família de pigmentos fenólicos encontradas nas plantas e alimentos, geralmente em baixas concentrações. São compostos de baixa massa molecular, que apresentam 15 átomos de carbono, organizados na configuração $C_6-C_3-C_6$ (ANGELO e JORGE, 2007). No qual a ponte de três carbonos entre os grupos fenil normalmente é ciclisado com oxigênio, Figura 3.9.

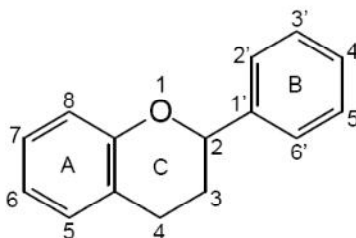


Figura 3.9 - Estrutura química geral dos flavonóides.

A estrutura básica dos flavonóides permite uma magnitude de padrões de substituições e variações no anel “C”, que resultam em importantes classes de flavonóides como os flavonóis, flavonas, flavanonas, flavanóis (ou catequinas), isoflavonas e antocianidinas, Figura 3.10. Substituições nos anéis “A” e “B” originam diferentes compostos dentro de cada classe de flavonóides (HOLLMAN; KATAN, 1999).

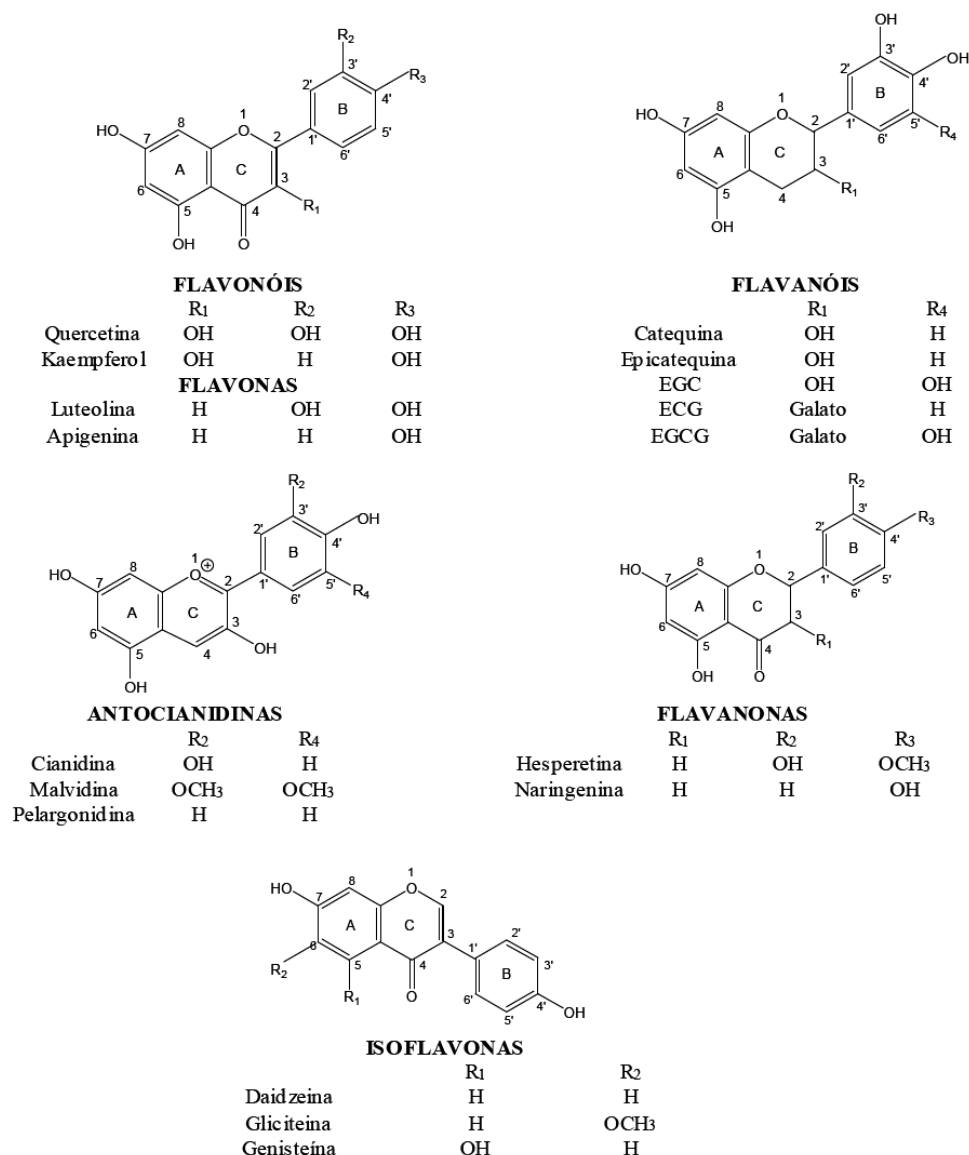


Figura 3.10 - Principais Classes de Flavonóides.

FONTE: Ribani (2006).

Os flavonóides atuam como antioxidantes efetivos, sendo responsáveis pela inibição de diversos processos oxidativos, devido principalmente à presença de ligações duplas conjugadas na estrutura dos flavonóides que permite o deslocamento dos elétrons π , bem como o grupo *orto*-dihidroxi do

anel β -catecol, em alguns flavonóides, que permite uma transição redox envolvendo a formação de radical semiquinona livre (RYAN et al., 2002; MORAIS et al., 2009).

Os flavonóides em sua maioria são localizados nas plantas, principalmente, nas folhas e flores, e nas frutas em suas partes externas, pele ou casca, decrescendo em concentração até o centro destas. Estes conteúdos são fortemente influenciados tanto por fatores intrínsecos como enzimas geneticamente controladas, quanto por fatores extrínsecos como condições edafoclimáticas, grau de amadurecimento e processamento (RIBANI, 2006).

Os compostos não flavonóides classificam-se basicamente em ácidos hidroxibenzóicos e hidroxicinâmicos e cumarinas. Os ácidos hidroxibenzóicos são os compostos fenólicos de estruturas mais simples e os mais representativos em termos de encontro e diversidade. A sua estrutura básica é composta por C_6-C_1 e seu representante mais comum é o ácido gálico. Já os ácidos hidroxicinâmicos apresentam uma estrutura básica de C_6-C_3 e seus maiores representantes são os ácidos *p*-cumárico, caféico, ferúlico e sinápico (PICCIN, 2004).

Vale salientar, como afirma MOURE et al. (2001), que *in vitro*, a capacidade antioxidante dos compostos fenólicos altera em função de diversos fatores, tais como: a propriedade redox dos grupos hidroxifenólicos, a relação entre as diferentes partes de sua estrutura química, a polaridade do solvente empregado para sua extração, os procedimentos de isolamento e sua pureza, e ainda em função do ensaio que será desenvolvido, se em sistema aquoso ou lipídico.

De forma geral, os antioxidantes fenólicos apresentam como mecanismo de ação uma interação preferencial com o radical peróxil por ser este mais prevalente na etapa da autooxidação e por possuir menor energia do que outros radicais, fato que favorece a abstração do seu hidrogênio (DECKER, 1998).

Este mecanismo de ação dos antioxidantes possui um papel importante na redução da oxidação lipídica. E estudos vêm analisando tais efeitos na oxidação de biodieseis.

Rodrigues Filho (2010) reportou a utilização de substâncias fenólicas sintéticas (BHT) e naturais (cardanol e eugenol hidrogenadas), extraídas do líquido da castanha do caju e do cravo da Índia, como aditivos antioxidantes

para o biodiesel de algodão, analisando seus efeitos através de ensaios de estabilidade oxidativa. O autor verificou que os resultados dos testes de índice de peróxido, iodo, acidez, viscosidade e espectroscopia no UV-vis mostraram uma ordem de atividade inibitória dos processos oxidativos para os compostos testados bastante satisfatória no que diz respeito aos antioxidantes naturais: eugenol hidrogenado > cardanol hidrogenado > BHT. Sendo que essa mesma ordem de atividade foi verificada quando foi utilizada técnicas aceleradas de oxidação como a Calorimetria Exploratória Diferencial Pressurizada (PDSC) e PetroOxy.

Liang et al. (2006), realizaram um estudo investigando o efeito do antioxidante natural α -Tocoferol em comparação aos sintéticos BHT e TBHQ adicionados ao biodiesel de óleo de palma através da técnica Rancimat. Verificando que todos os antioxidantes apresentaram efeitos benéficos na inibição da oxidação do biodiesel. Entretanto, os antioxidantes sintéticos apresentaram-se bem mais efetivos, mesmo em baixas concentrações, do que o antioxidante natural em concentrações elevadas. Em termos de eficiência antioxidante os autores concluíram a seguinte ordem: TBHQ>BHT> α -Tocoferol.

3.5.3. Classificação e mecanismo de ação dos antioxidantes

De acordo com seu mecanismo de ação, os antioxidantes podem ser classificados em primários ou secundários. Os antioxidantes primários, como os compostos fenólicos, atuam principalmente na etapa de iniciação, interrompendo a cadeia de reação através da doação de elétrons ou hidrogênio aos radicais livres da molécula lipídica, convertendo-os em produtos termodinamicamente estáveis ou reagem com radicais livres, formando o complexo lipídio-antioxidante que, por sua vez, pode reagir com outro radical livre (SHAHIDI, 2004).

O átomo de hidrogênio ativo do antioxidante é sequestrado pelos radicais livres com maior facilidade que os hidrogênios alílicos das moléculas insaturadas formando espécies inativas para a reação em cadeia e um radical relativamente estável procedente do antioxidante (RAMALHO e JORGE, 2006). O mecanismo de ação dos antioxidantes primários encontra-se representado na Figura 3.11.

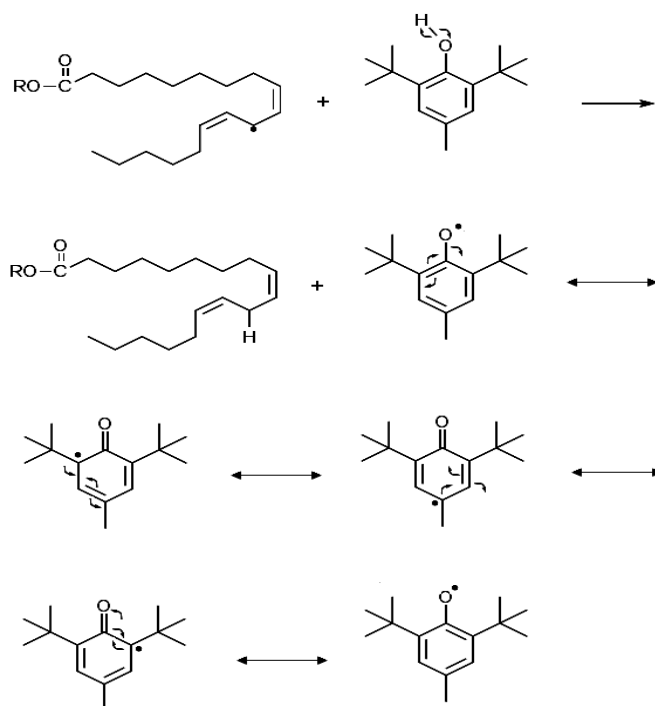


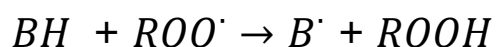
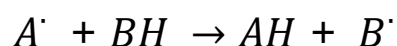
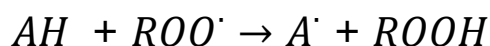
Figura 3.11 - Mecanismo de ação do antioxidante primário BHT frente ao radical do éster linoleato de alquila.

FONTE: Rodrigues Filho (2010).

Os antioxidantes secundários, como o ácido ascórbico e o ácido cítrico, atuam retardando a reação de autooxidação por diferentes mecanismos, que incluem complexação com metais, sequestro de oxigênio, decomposição de hidroperóxidos para formar espécie não radicalar, absorção da radiação ultravioleta ou desativação do oxigênio singlete (LAGUERRE et al., 2007).

Os decompositores de hidroperóxidos trabalham quimicamente reagindo com os hidroperóxidos presentes no material lipídico, convertendo-os em álcoois, enquanto os mesmos mudam para uma forma oxidada inócua.

Os antioxidantes quelantes de metais atuam de forma preventiva, uma vez que não ocorre a interação com radicais, e inibem a decomposição do peróxido (ARAÚJO, 2004). Os sinergistas são substâncias com pouca ou nenhuma atividade antioxidante, que podem aumentar a atividade dos antioxidantes primários quando usados em combinação adequada com eles, sendo o ácido cítrico o mais conhecido (LAGUERRE et al., 2007). Um mecanismo para a ação do antioxidante sinérgico foi relatado por Lundberg (1962) e está representado na Figura 3.12.



Onde: AH = antioxidante primário; BH = antioxidante sinergista; ROO[·] = peróxi radical; ROOH = hidroperóxido de alquila.

Figura 3.12 - Esquema de ação dos antioxidantes sinergistas.

FONTE: Lundberg (1962).

MIN & LEE (1996) sugeriram dois mecanismos para a inativação do oxigênio singleto. O primeiro foi uma inativação química, na qual o oxigênio singleto reage com supressores para a formação de supressores oxidados (antioxidantes). E um mecanismo físico que converte o oxigênio singleto a tripleto. A inativação física é explicada por transferência de energia e/ou carga, envolvendo a formação do oxigênio e do inativador, ambos tripleto.

Contudo, a atividade antioxidante varia de acordo com o tipo de composto e sua concentração. Segundo Nawar (1996), para que o antioxidante seja efetivo, precisa, em baixas concentrações, competir com a molécula insaturada (RH), presente no óleo ou biodiesel em altas concentrações, pelo radical lipídico.

A determinação da eficácia de um antioxidante corresponde frequentemente à medida do alargamento do período de indução resultante da sua adição. Esse alargamento é por vezes expresso como um índice antioxidante ou fator de proteção (ANTONIASSI, 2001).

3.5.4. Romã (*Punica granatum*, L.)

A romã, fruto da romazeira, pertencente à família *Punicaceae* é originária da região do Oriente Médio. A fruta é consumida tanto nas formas *in natura* como na forma de produtos processados. Na medicina popular, as sementes e casca são utilizadas principalmente no tratamento de infecções, podendo também ser empregada como vermífugo (SCHUBERT et al., 1999; MACHADO et al., 2002).

Na literatura estão dispostos alguns trabalhos experimentais que demonstram que os constituintes da romã, principalmente os fenólicos,

apresentam influência sobre diversos fatores biológicos, além de inúmeras indicações farmacológicas (AVIRAN et al., 2000; ROSS et al., 2001; SCHUBERT et al., 1999).

Em estudos realizados verificou-se que a romã é um fruto extremamente rico em vitaminas A e E, potássio, ácido fólico e polifenóis, como ácidos fenólicos, antocianinas, flavanóis e flavonóis (POYRAZOGLU et al., 2002). Seu suco apresenta compostos fenólicos como: antocianinas, quercetina, ácidos fenólicos (caféico, catequínico, clorogênico, *orto* e *paracumárico*, elágico, gálico e quínico) e taninos (ARTIK et al., 1999; POYRAZOGLU et al., 2002).

Segundo Artik et al. (1999) na romã, as antocianinas estão presentes em grande quantidade, conferindo à fruta sua coloração rosa característica. Das antocianinas encontradas, os glicósitos da cianidina e definidina estão presentes na mucilagem, e a pelargonidina encontrada somente na casca. Li et al. (2006) mostrou que a casca da romã apresenta cerca de 10 vezes a quantidade de compostos fenólicos presentes na polpa.

Nesta perspectiva, a presença destes compostos na romã propicia seu estudo como uma importante fonte de substâncias antioxidantes, pois de acordo com Soares (2002), a presença dos compostos fenólicos em plantas tem sido estudada por estes apresentarem atividades farmacológica, antinutricional e alta inibição aos processos oxidativos.

He et al. (2010) extraíram e isolaram os compostos fenólicos de resíduos de sementes de romã. Investigando inicialmente a quantidade de fenólicos totais e o conteúdo de proantocianinas, em relação à catequina, presentes no extrato, obtendo respectivamente 2.427,90 e 505,63 mg 100 g⁻¹. Avaliou-se ainda a capacidade antioxidante dos compostos individuais, detectando 17 compostos no extrato do resíduo da semente da romã com capacidade antioxidante. Os principais compostos fenólicos identificados foram flavol-3-óis, ácidos fenólicos, flavonóides glicosídeos, e taninos hidrolisáveis.

3.5.5. CHÁ VERDE (*Camellia sinensis*)

O chá-verde é um produto obtido a partir da *Camellia sinensis*, na qual as folhas e brotos recebem tratamento térmico para inativação de suas

enzimas. Este tratamento preserva os polifenóis encontrados naturalmente na planta fresca numa proporção de 45-90% (SABU et al., 2002).

Estudos reportam que os polifenóis do chá verde podem estar presentes em até 36% da base seca, dependendo do clima, estação do ano ou variedade (WANASUNDARA e SHAHIDI, 1998).

Os principais constituintes fenólicos presentes nas folhas do chá de *Camelia sinensis* são os taninos (ácido gálico) e flavonóides (quercetina, miricetina, canferol e catequinas), além do ácido hidroxicinâmico e ácido hidroxibenzóico (FARHOOSH, 2007). De acordo com Schmitz et al. (2005), as catequinas correspondem a 26,7% dos compostos presentes na espécie *Camelia sinensis* (chá verde), dos quais 11% são constituídos de galato-3 epigalocatequina (EGCG), 10% galato-3-epicatequina (EGC), 2,5% epicatequina (EC) e 2% epigalocatequina (ECG).

Muitos destes compostos fenólicos, em especial as catequinas, têm se destacado no meio científico por apresentarem atividade quimiopreventiva, anticarcinogênica, antiinflamatória e antiviral (NISHIYAMA et al., 2010); além de serem potentes antioxidantes, sequestradores de radicais livres, quelantes de metais e inibidores da lipoperoxidação (SCHMITZ, 2005).

Wanasundara e Shahidi (1998) reportaram que as catequinas do chá verde têm sido mais efetivas na redução da oxidação lipídica que o antioxidante natural α -tocoferol e o antioxidante sintético BHA.

Toit e colaboradores (2001) compararam a atividade antioxidante de frutas, vegetais e chás mensurando seu equivalente em vitamina C e observaram que a atividade antioxidante de duas xícaras de chá-verde, na concentração de 120-140 $\mu\text{g ml}^{-1}$ de catequinas, equivale à capacidade antioxidante de 400 mg de vitamina C.

3.5.6. LIMÃO (*Citrus Limon*)

O limão siciliano, uma das principais variedades do limão verdadeiro, apresenta uma produção bastante consolidada no mundo, mas ainda de pequeno porte no Brasil, quando comparado com a produção de outros citros. É referenciado pela grande quantidade de compostos bioativos, tais como tocoferóis, carotenóides, ácidos orgânicos como o ácido cítrico e o ácido

ascórbico, ácidos fenólicos, como o ácido hidroxicinâmico e flavonóides (DIMITRIOS, 2006; ECONOMOS; CLAY, 1999), que dentre diversas funções lhes caracterizam pela atividade inibitória da peroxidação lipídica.

Um estudo utilizando a separação cromatográfica em diferentes extratos de limão siciliano revelou a presença de três flavonóides como componentes principais do limão: hesperidina, eriocitrino e diosmina (CARISTI et al., 2003).

A hesperidina e a diosmina, flavonona e flavona respectivamente, apresentam inúmeras aplicações farmacológicas, bem como atuam de forma eficaz como um antioxidante supressor de oxigênio e de radicais livres presentes nas reações redox. O eriocitrino, presente principalmente na casca do limão, foi relatado como tendo a maior atividade antioxidante, entre todos os flavonóides glicosídeos presentes no limão (DEL RÍO et al., 2004).

Kuljarachanan (2009) analisando resíduos de limão como fonte vegetal de antioxidante natural, encontrou correlação entre teor de compostos fenólicos e a atividade antioxidante total, sendo que tais compostos foram os antioxidantes que mais contribuíram para a atividade do produto.

3.6. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Por definição, a atividade antioxidante é a capacidade de um composto de inibir a degradação oxidativa. As propriedades antioxidantes de extratos e substâncias isoladas podem ser avaliadas através de diversos ensaios que determinam tanto a habilidade dos antioxidantes em sequestrar espécies reativas geradas no meio reacional, quanto avaliam a eficiência dos antioxidantes em inibir a peroxidação lipídica por meio de: quantificação dos produtos da reação - dienos conjugados e hidroperóxidos; quantificação dos produtos da decomposição da peroxidação lipídica, ou medição da inibição da oxidação do lipídio do sistema pelo antioxidante a ser testado (OLIVEIRA et al., 2009).

Dentre estes métodos destacam-se: o método ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico), o método de co-oxidação do β -caroteno/ácido linoléico e o método de DPPH, que tem sido exaustivamente utilizado devido principalmente a sua simplicidade e rapidez (BRAND-WILLIAMS et al., 1995; SILVA et al., 1999; FERREIRA et al. 2009).

O DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazil) é uma molécula considerada um radical livre estável por apresentar um elétron livre que pode deslocar-se por toda a sua estrutura, e apresenta a propriedade de não dimerizar facilmente como ocorre comumente com os demais radicais livres. A molécula de DPPH apresenta uma propriedade específica, uma coloração violeta púrpura, que é caracterizada por apresentar em solução alcoólica uma banda de absorção em torno de 517 nm. Por ação de um antioxidante, o DPPH é reduzido formando 2,2-difenilpicril-hidrazina (DPPH-H), Figura 3.13, de coloração amarela, com consequente desaparecimento da banda de absorção, sendo a mesma monitorada pelo decréscimo da absorbância (OLIVEIRA et al., 2009).

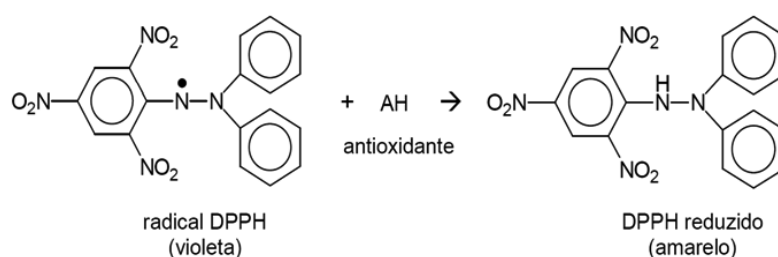


Figura 3.13 - Estrutura química do DPPH e reação com um antioxidante.

FONTE: Adaptado de Oliveira et al., (2009).

3.7. MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE TÉRMICA E OXIDATIVA DE ÓLEOS, GORDURAS E BIODIESEL

O monitoramento da estabilidade térmica e oxidativa pode ser realizado por diversas técnicas químicas e físicas, dentre as quais destacam-se, os índices de iodo, peróxido, acidez e viscosidade cinemática. Além dessas, análises espectroscópicas e cromatográficas que podem revelar a formação de peróxidos, hidroperóxidos e produtos secundários voláteis e não-voláteis de oxidação também são bastante utilizadas (DANTAS, 2010).

Como os fenômenos naturais de oxidação são processos lentos, desenrolando-se frequentemente ao longo de vários meses, testes de estabilidade pontuais a exemplo dos supracitados, e/ou em tempo real tornam-se por vários aspectos incompatíveis com o controle de qualidade estimados para aplicações industriais.

Na tentativa de minimização deste problema, tem-se recorrido aos métodos acelerados de oxidação, nos quais óleos, gorduras ou biodiesel são submetidos à oxidação acelerada, sob condições padronizadas (oxigenação intensiva, tratamento térmico e/ou catálise metálica) estimando-se de forma rápida a estabilidade oxidativa destas matérias graxas ou ainda a eficiência de um antioxidante, isolado ou em associação (JAIN e SHARMA, 2010).

Através destes métodos procura-se avaliar um determinado parâmetro indicador, o período de indução (PI) da reação, ou seja, o tempo necessário para se atingir um ponto crítico de oxidação (ANTONIASSI, 2001). Dentre os métodos comumente utilizados pode-se citar o Rancimat, PetroOxy e da Calorimetria Exploratória Diferencial Pressurizada (PDSC).

O Rancimat é o método normatizado, EN 14112, adotado pela ANP 07/08 e baseia-se na exposição da amostra a uma temperatura de 110 °C sob um fluxo constante de ar. O referido método consiste em submeter uma amostra de biodiesel a um processo oxidativo, no qual inicialmente são formados peróxidos, primeira etapa de oxidação. Os produtos formados nesta primeira etapa dão origem a produtos secundários, compostos orgânicos voláteis, principalmente ácidos orgânicos de cadeia curta, que são conduzidos através de um fluxo de ar para uma célula onde ocasionam aumento da condutividade elétrica da água contida nesta célula. O tempo decorrente até a detecção dos ácidos orgânicos é denominado período de indução (SILVA et al., 1999; ANTONIASSI, 2001; LÔBO et al., 2009). Na Figura 3.14 está apresentado o funcionamento básico do aparelho Rancimat.

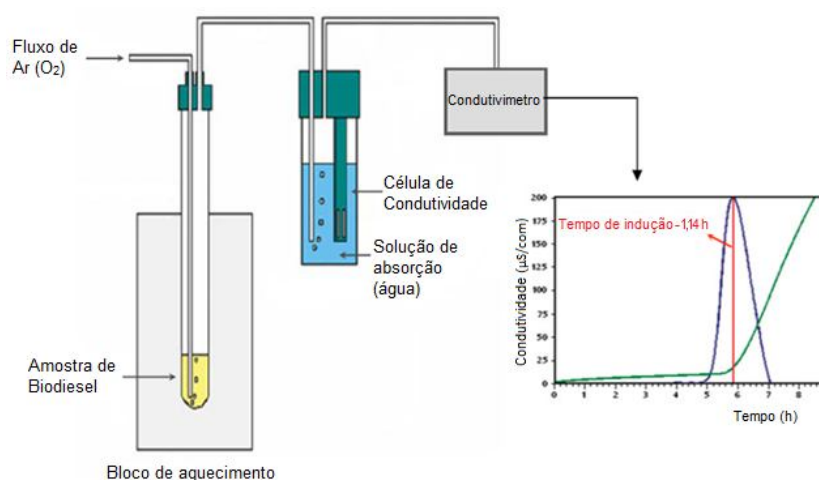


Figura 3.14 - Esquema de funcionamento do equipamento Rancimat.

FONTE: Dantas, (2010).

O PetroOxy consiste de um novo método de oxidação acelerada que apresenta como variáveis a pressão e a temperatura. A análise tem como base um decréscimo no valor da pressão do sistema, que provém da absorção de oxigênio pela amostra e do consequente processo oxidativo.

O equipamento é constituído de uma câmara hermeticamente fechada, na qual a amostra é introduzida e submetida à pressurização de oxigênio e elevação da temperatura, propiciando a simulação de um rápido mecanismo de oxidação. O processo é descrito em três fases, sendo representado em uma curva tempo x pressão, Figura 3.15. A primeira fase inicia quando a amostra é pressurizada com oxigênio puro atingindo 700 kPa, e em seguida tem sua temperatura elevada até o valor previamente selecionado. Devido o volume na câmara permanecer constante e a temperatura sofrer elevação, o valor da pressão aumentará gradualmente até atingir um valor máximo que concerne com a origem do biodiesel analisado. A segunda fase reflete o princípio do processo oxidativo, pois indica o início do consumo de oxigênio e um consequente lento decaimento da pressão, evidenciado por uma ligeira inclinação linear no gráfico. A terceira fase inicia quando é registrado um ponto de inflexão no gráfico apresentando uma queda de pressão considerável no sistema. Esta etapa finaliza quando é observada uma queda de 10% no valor da pressão máxima atingida na primeira fase do teste. (ARAÚJO et al., 2009; ARAÚJO et al., 2011).

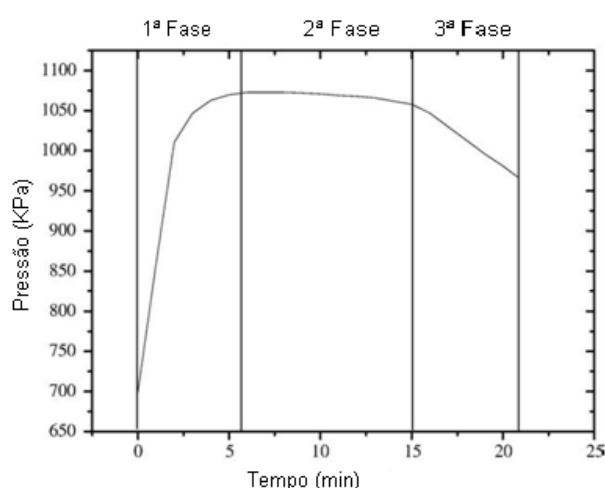


Figura 3.15 - Esquema do perfil da curva representativa do processo de oxidação acelerada no equipamento PetroOxy.

FONTE: Araújo et al., (2009).

A Calorimetria Exploratória Diferencial Pressurizada – PDSC é um método termoanalítico que vem se destacando na análise do tempo de indução oxidativa de óleos, lubrificantes e polímeros, usando um fluxo de calor diferencial entre a amostra e um termopar de referência sob variações de temperatura e pressão (DANTAS et al., 2011).

Este método baseia-se na medida da energia liberada durante a reação de oxidação, ao invés da análise de qualquer produto químico específico do processo oxidativo, pois a análise é realizada diretamente na amostra (DUNN, 2006). Apresenta vantagens em relação a alguns métodos de oxidação acelerada, a exemplo do Rancimat, pois o mesmo pode ser utilizado a temperaturas inferiores e acresce uma variável, a pressão, que torna possível acelerar as reações oxidativas pela possibilidade do aumento do número de mols de oxigênio presentes no meio. Além disso, se utiliza uma pequena quantidade de amostra para análise e, ainda, devido a pressurização é possível minimizar a perda de componentes do material, tais como antioxidantes, pela evaporação (KODALI, 2005; DANTAS et al., 2011).

O ensaio no PDSC pode ser realizado tanto no modo dinâmico, onde infere-se a temperatura de oxidação da amostra, quanto no modo isotérmico, onde determina-se o tempo de indução oxidativa da amostra (HPOIT). Em ambos os modos a liberação súbita de energia é medido em relação à linha de base do fluxo de calor.

**C
A
P
Í
T
U
L
O
4**

**PROCEDIMIENTO
EXPERIMENTAL**

4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

A elaboração deste trabalho compreendeu duas partes: a obtenção dos extratos antioxidantes de três espécies vegetais e a preparação do biodiesel de soja e de quiabo juntamente com as blends. A biodegradabilidade do biodiesel condicionou a parte experimental a iniciar-se com a obtenção dos antioxidantes.

4.1. EXTRATOS ANTIOXIDANTES

4.1.1 Coleta e preparo do material vegetal

Para a obtenção dos antioxidantes foram utilizadas as espécies *Punica Granatum* (romã), *Citrus limon* (limão siciliano) e *Camellia sinensis* L. (chá verde), as quais foram adquiridas no comércio da cidade de João Pessoa-PB no período de janeiro a março de 2010.

As romãs e os limões foram lavados e abertos à temperatura ambiente, separando-se casca, polpa e semente. As cascas das frutas, as folhas e os talos do chá verde foram secos em estufa com circulação forçada de ar a uma temperatura de 50°C por um período de 24 horas, para redução do teor de umidade. Em seguida foram trituradas com auxílio de um moinho analítico de facas até a sua total pulverização, Figura 4.1.



Figura 4.1 – Matérias-primas trituradas utilizadas para preparação dos extratos antioxidantes da casca do limão, romã e talos e folhas do chá verde.

4.1.2. Obtenção dos Extratos

Os materiais vegetais pulverizados das três espécies foram submergidos em álcool etílico P.A, cada um em um recipiente de vidro, a frio, sob agitação diária em ultrassom, durante cinco dias. Após este período, foram filtrados e o solvente removido sob pressão reduzida a 50 °C em rotaevaporador, obtendo-se os extratos etanólicos codificados na Figura 4.2.

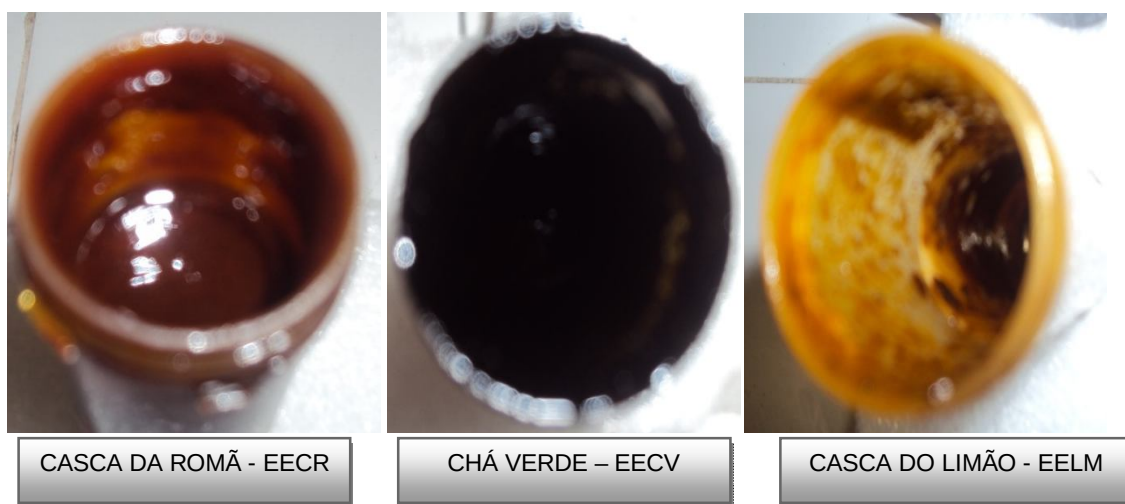


Figura 4.2 – Extratos etanólicos obtidos das fontes vegetais do chá verde, da casca da romã e do limão.

4.1.3. Avaliação da solubilidade dos extratos na matriz lipídica

Testes de solubilidade foram realizados com os extratos etanólicos em meio lipídico utilizando-se diferentes concentrações dos mesmos, e o emulsificante tween 20. Realizou-se também fracionamentos cromatográficos dos extratos etanólicos em coluna de sílica gel, com o intuito de investigar a solubilidade das frações das respectivas amostras.

Para a obtenção das frações utilizou-se o procedimento adaptado descrito por Cabral e colaboradores (2009), onde 15 g do extrato foram submetidas à cromatografia em coluna de sílica gel (G60 Merck 70 – 230 mesh; tamanho da partícula 0,063 – 0,02), utilizando como eluentes hexano, clorofórmio, acetato de etila e etanol.

4.2. CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS

4.2.1. Determinação da Atividade Antioxidante

A atividade antioxidante dos extratos vegetais e do padrão ácido ascórbico foi determinada pela capacidade doadora de elétrons das amostras ao radical livre estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil). A metodologia empregada seguiu o descrito por Brand-Williams et al. (1995), modificado por Miliauskas et al. (2004). No procedimento foram utilizadas soluções etanólicas dos extratos, em concentrações de 1, 2, 3, 4 e 5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de soluções etanólicas de DPPH a 0,1 mmol L^{-1} . Para cada amostra foi utilizado um branco, isento de DPPH, com a finalidade de verificar o efeito do solvente. As amostras foram deixadas em repouso por períodos determinados pela cinética reacional de cada uma e em seguida foram realizadas as leituras de absorbância em 517 nm.

Para avaliar a cinética da reação, os extratos em solução alcoólica na concentração de 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$, juntamente com a solução de DPPH 0,1 mmol L^{-1} , foram monitorados a cada 5 min, através do registro da absorbância, até que a reação atingisse um platô de estabilidade (valores de absorbância constantes).

Para efeito de cálculo da atividade antioxidante, preparou-se um controle, isento de extratos, constituído apenas de etanol e solução etanólica de DPPH.

A atividade antioxidante foi expressa em percentual, calculada de acordo com a equação 4.1:

$$AA(\%) = 100 - \left(\frac{((Aa - Ab) \times 100)}{Ac} \right) \quad \text{Equação 4.1}$$

Onde: Aa = absorbância da amostra; Ab = Absorbância do branco; Ac = absorbância do controle; AA = atividade antioxidante da amostra.

Outra maneira comparativa de expressar a atividade antioxidante pelo método do sequestro do radical livre DPPH, muito utilizada em pesquisas que envolvem o estudo da atividade antioxidante de algum material, é por meio do EC_{50} (concentração mínima necessária para o antioxidante reduzir em 50% o

radical DPPH inicial da reação). Os valores do EC₅₀ foram calculados por regressão linear dos gráficos, onde o eixo das abscissas representou a concentração dos extratos e o eixo das ordenadas a atividade antioxidante (%) calculada anteriormente.

4.2.2. Análise Termogravimétrica – TG dos Extratos

As curvas termogravimétricas foram obtidas em condições não isotérmicas em um analisador térmico SDT 2960 da TA Instruments, em atmosfera de oxigênio, razão de aquecimento de 20 °C min⁻¹, no intervalo de temperatura de 25 a 600 °C. O ensaio foi realizado com cerca de 10 mg da amostra em cadinho de platina. As curvas foram registradas visando verificar o perfil da decomposição térmica dos extratos em estudo.

4.3. OBTENÇÃO DOS ÓLEOS

4.3.1. Óleo de Soja

O óleo de soja refinado da marca Liza[®], isento de antioxidantes, segundo as especificações do fabricante, foi adquirido na rede de supermercados da cidade de João Pessoa em agosto de 2010.

4.3.2. Óleo de Quiabo

4.3.2.1. Extração do Óleo de Quiabo

Diferente do óleo de soja, o óleo de quiabo não se encontra disponível para comercialização, tornando necessária a obtenção de sementes para a extração do mesmo.

As sementes de quiabo (*Abelmoschus esculentus*) foram adquiridas no comércio livre da cidade de João Pessoa.

Inicialmente, tentou-se a extração mecânica realizada por prensagem a frio, em uma prensa mecânica adaptada, marca Ribeiro, com pressão máxima de aproximadamente 30 toneladas e tempo aproximado de 3 h. Em seguida,

utilizou-se a metodologia descrita por Moretto (1998), referente ao processo de extração química contínua. As sementes foram secas em estufa com circulação de ar a 50 °C e em seguida maceradas em moinho de facas, para facilitar a penetração do solvente.

A extração foi feita utilizando um extrator tipo Soxhlet, com temperatura em torno de 67°C, utilizando como solvente o n-hexano e tempo de extração de 6 horas. Para a remoção do solvente utilizou-se o rotaevaporador.

4.3.2.2. Rendimento do Óleo

O teor de óleo extraído das sementes de quiabo foi mensurado de acordo com o método oficial da AOCS Bc 3-49.

4.4. DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE ACIDEZ DOS ÓLEOS

Para a determinação do índice de acidez dos óleos foi utilizado o método descrito pela AOCS, no qual se aplica 25 mL de solução de éter – álcool (2:1), previamente neutralizada, com uma solução de hidróxido de potássio 0,1 N, a 2 g da amostra, sendo seguidamente titulada com solução de KOH 0,1 N, na presença do indicador fenolftaleína até mudança de coloração. Os valores referentes a este índice foram calculados a partir da equação 4.2:

$$\text{Índice de Acidez} = \frac{V \cdot f \cdot 5,61}{m} \quad \text{Equação 4.2}$$

Onde: V = volume (mL) de solução de hidróxido de sódio a 0,1 N gasto na titulação; f = fator de correção da solução de hidróxido de potássio; m = massa da amostra (g).

4.5. NEUTRALIZAÇÃO DOS ÓLEOS

Os óleos com índice de acidez acima de 2 mg KOH g⁻¹ de amostra foram submetidos ao processo de neutralização. No procedimento empregou-se a metodologia proposta por Moretto (1998), com algumas adaptações. Nesta,

utilizou-se uma solução de hidróxido de sódio a 12% com uma quantidade em volume proporcional a 15% da massa do óleo.

A neutralização foi feita pela adição de hidróxido de sódio ao óleo, à temperatura ambiente. A mistura foi mantida sob agitação vigorosa e após 30 minutos foi aquecida sob agitação lenta a 55 °C com a finalidade de quebrar a emulsão formada. A mistura foi filtrada a vácuo para separar as fases (óleo-borra). O óleo resultante foi lavado com água a uma temperatura de 50 °C, seguido de secagem em estufa.

4.6. PERFIL CROMATOGRÁFICO DOS ÓLEOS

Como a literatura (SHAHIDI, 2004; GUNSTONE et al., 2007; MENEGHETTI et al., 2007) aborda a composição química do óleo de soja com mínimas variações de seus constituintes, mesmo considerando diferentes fontes ou safras, utilizou-se o perfil cromatográfico do óleo de soja com base nos estudos de Candeia (2008). Em contrapartida, devido à escassez de estudos atuais sobre a constituição graxa do óleo proveniente da semente de quiabo realizou-se um ensaio cromatográfico para determinação destes constituintes.

4.6.1. Esterificação do Óleo de Quiabo

Para obtenção dos dados cromatográficos, as amostras de óleo de quiabo foram previamente esterificadas, segundo metodologia descrita por Maia e Rodriguez-Amaya (1993).

Inicialmente o óleo foi medido, em alíquotas de 30-100 mg, e em um tubo de ensaio de 20 mL, submetido a etapa de saponificação com a adição de 4 mL de solução de hidróxido de sódio em metanol a 0,5 N (agente hidrolizante). A mistura foi aquecida por cerca de 4 minutos, em banho de água quente, ou até que os glóbulos de gordura estivessem completamente dissolvidos. Os tubos foram resfriados em água corrente e em seguida foi feito o procedimento de esterificação das amostras com a adição de 5 mL da solução esterificante (10 g de cloreto de amônio dissolvidos em 300 mL de metanol, adicionado de 15 mL de ácido sulfúrico concentrado). Em seguida os

tubos foram agitados e levados novamente ao aquecimento por 5 minutos e posterior resfriamento. Foram então adicionados 4 mL de solução saturada de cloreto de sódio e realizada intensa agitação por 30 segundos. Por fim, acrescentou-se 5 mL de hexano, com agitação por mais 30 segundos e colocou-se os mesmos em repouso sob refrigeração, para a total separação das fases, até a execução da análise cromatográfica.

4.6.2. Cromatografia Gasosa Acoplada ao Espectrômetro de Massa

A identificação e quantificação dos perfis dos ácidos graxos do óleo de quiabo foram realizadas por cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massa, marca Shimadzu, modelo CG-MS QP 2010, equipado com injetor split e amostrador automático. A coluna capilar utilizada foi a DB-23 (30 m; 0,25 mm; 0,25 μm) e o gás de arraste o hélio com vazão de 96 mL.min⁻¹. Foram injetados 1 μL da amostra, com temperatura do injetor de 230 °C. A temperatura inicial da coluna foi de 150 °C com a programação do forno apresentada na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 – Programação da temperatura do forno do cromatógrafo a gás.

Rampa de Aquecimento	Temperatura (°C)	Patamar (min)
-	90	1
8 °C/min até 200 °C	200	1
3 °C/min até 210 °C	210	0
20 °C/min até 230 °C	230	2

4.7. SÍNTESE DE BIODIESEL ETÍLICO DE ÓLEO DE QUIABO E DE SOJA

As amostras de biodiesel de óleo de quiabo e soja foram obtidas a partir da reação de transesterificação via catálise homogênea alcalina e rota etílica utilizando-se 1% de catalisador KOH em relação à massa do óleo, com razão molar de 7:1 etanol/óleo de quiabo (ANWAR et al., 2010) e 6:1 etanol/óleo de soja (CANDEIA et al., 2009).

Inicialmente foi preparada a solução do etóxido de potássio (hidróxido de potássio + etanol), em seguida adicionou-se a mesma aos óleos separadamente sob agitação. A reação processou-se por um período de aproximadamente uma hora. Decorrido este tempo o produto foi transferido para um funil de decantação, para separação das fases.

Após um repouso de 24 h, observou-se duas fases bem distintas: uma contendo ésteres, menos densa e mais clara, e outra rica em glicerina, mais densa e mais escura. A glicerina foi retirada e o biodiesel purificado pelo processo de lavagem com posterior secagem a temperatura de 105°C em estufa. O esquema do processo de síntese dos biodieseis encontra-se representado no fluxograma, Figura 4.3.

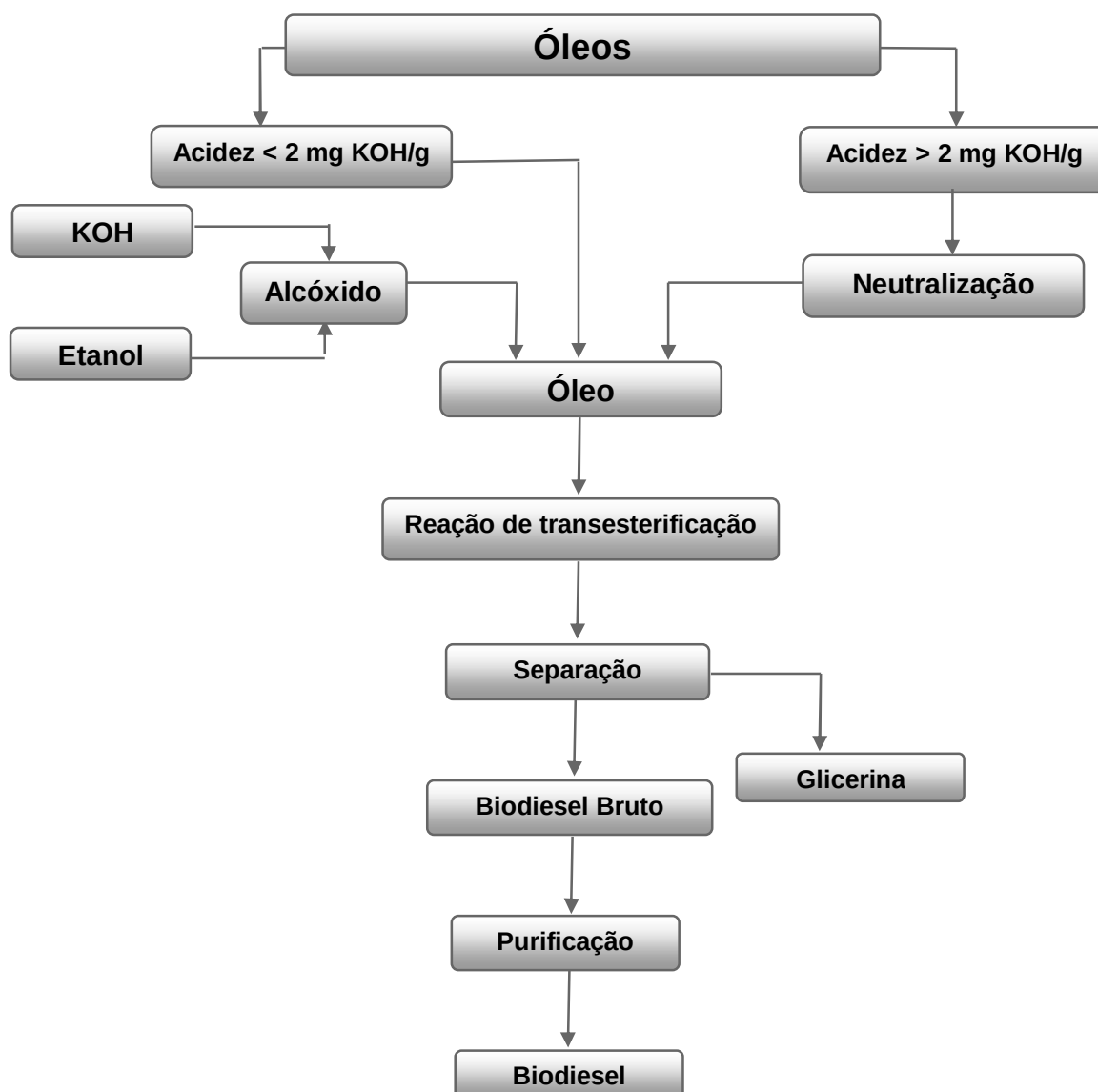


Figura 4.3 – Fluxograma referente à síntese de biodiesel etílico de quiabo e de soja.

4.8. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO BIODIESEL ETÍLICO DE QUIABO E DE SOJA

4.8.1. Espectroscopia de Absorção na região do infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em espectrofotômetro modelo IR Prestige-21 por transformada de Fourier da Shimadzu na faixa de 4000-400 cm^{-1} .

4.8.2. Índice de Acidez

A determinação do índice de acidez do biodiesel etílico de quiabo e de soja seguiu a mesma metodologia descrita no item 4.4.

4.8.3. Índice de Iodo

Para a determinação do índice foi aplicada a metodologia oficial preconizada pela AOCS, Cd 1 – 25, método de Wijs. Os valores desta determinação foram calculados a partir da equação 4.3:

$$\text{Índice de Iodo} = \frac{(B - A) \cdot f \cdot 1,27}{m} \quad \text{Equação 4.3}$$

Onde: B = Volume (mL) da solução de tiosulfato de sódio gasto na titulação do branco; A = Volume (mL) da solução de tiosulfato de sódio gasto na titulação da amostra; f = fator de correção da solução de tiosulfato de sódio 0,1 mol L^{-1} ; m é a massa da amostra em gramas; e 1,27 é centiequivalente do iodo.

4.9. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS AMOSTRAS DE BIODIESEL POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA AO ESPECTRÔMETRO DE MASSA – (CG/MS)

A identificação dos ésteres etílicos presentes nas amostras de biodiesel etílico de quiabo e de soja foi realizada de acordo com a metodologia descrita no item 4.6.2.

4.10 PROPRIEDADES DE FLUXO DAS AMOSTRAS DE BIODIESEL ETÍLICO DE QUIABO E DE SOJA

4.10.1. Viscosidade Cinemática a 40 °C

A viscosidade cinemática, realizada de acordo com a norma ASTM D-445, foi medida através do tempo de escoamento do fluido por um capilar de vidro do tipo Cannon Fenske em banho térmico a 40 °C, utilizando um viscosímetro da marca Julabo, modelo V18. A viscosidade das amostras foi calculada utilizando a equação 4.4:

$$U = C \cdot t \quad \text{Equação 4.4}$$

Onde: U = viscosidade cinemática ($\text{mm}^2 \text{s}^{-1}$); C = constante capilar do viscosímetro ($\text{mm}^2 \text{s}^2$); t = tempo (s).

4.10.2. Ponto de Névoa e Fluidez

As determinações do ponto de névoa (PN) e ponto de fluidez (PF) foram realizadas de acordo com a norma ASTM D-2500 e ASTM D-97, respectivamente, em equipamento marca TANAKA modelo MPC-102L.

Para determinação do ponto de névoa submeteu-se, em uma taxa específica, uma determinada quantidade de amostra ao resfriamento, até que

fossem detectáveis em primeiro momento áreas turvas (cristais) no tubo de teste. O ponto de fluidez foi determinado pela menor temperatura na qual amostra fluiu quando sujeita a resfriamento sob condições determinadas de teste.

4.10.3. Ponto de Entupimento de Filtro a Frio

O ponto de entupimento de filtro a frio (PEFF) foi determinado de acordo com a norma ASTM D-6371-99 realizada em equipamento da marca TANAKA Scientific Limited, modelo AFP-102, consistindo no resfriamento da amostra até uma temperatura que o combustível perca a filtrabilidade.

4.11. ENSAIOS DE ESTABILIDADE OXIDATIVA ACELERADOS

4.11.1. Método EN 14112- Rancimat

As amostras de biodiesel de quiabo e de soja foram analisadas de acordo com a norma europeia EN 14112, utilizando o equipamento da METROHM (Modelo Biodiesel Rancimat 743).

De acordo com este método três gramas de amostra foram mantidas em um vaso de reação sob fluxo constante de ar de 10 L h^{-1} a uma temperatura de $110 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Os peróxidos e produtos voláteis formados pela oxidação do material são arrastados para um recipiente contendo água deionizada onde através de uma célula a condutividade é medida. O tempo decorrente até a detecção de um aumento súbito na condutividade, decorrente da presença dos compostos orgânicos voláteis de baixa massa molecular é denominado período de indução - PI. Segundo as especificações da ANP na Resolução nº 07/2008 o período de indução mínimo aceito deve ser superior a 6 horas. Tais cálculos dos PI foram realizados com o auxílio do programa que acompanha o equipamento (Software 743 - Rancimat).

4.11.2. Oxidação Acelerada pelo método PetroOxy

A análise oxidativa das amostras por este método foi executada usando o equipamento modelo PetroOxy da Petrotest. Inicialmente 5 mL de amostra

foram colocados em uma célula de reação (câmara hermeticamente fechada) à temperatura ambiente e submetidos a uma pressurização inicial de oxigênio puro de 700 kPa. Neste procedimento, inicialmente, a câmara é purgada pelo menos 2 vezes com oxigênio para garantir a completa eliminação de ar. Ao atingir a pressão de 700 kPa, a temperatura é progressivamente elevada a 110°C. O volume permanece constante dentro da câmara e a pressão aumenta gradualmente até um valor máximo que depende da natureza da amostra. Após estabilização desta pressão, um decaimento deste valor é observado, representando o consumo de oxigênio pela amostra. O final da análise é registrado quando se atinge o tempo necessário para que ocorra um decaimento de 10% da pressão máxima de oxigênio atingida no ensaio.

4.11.3. Calorimetria Exploratória Diferencial Pressurizada – PDSC

As análises de PDSC foram obtidas tanto nas condições não isotérmicas, necessárias para a seleção da temperatura da isoterma, quanto na condição isotérmica, que tem a finalidade de determinar o tempo de indução oxidativa a altas pressões – HPOIT. As curvas foram obtidas através de um calorímetro exploratório diferencial acoplado a uma célula de pressão, marca TA Instruments, modelo DSC 2920, utilizando cadinho de platina, com cerca de 10 mg da amostra, sob atmosfera de oxigênio e pressão de 203 psi (equivalente a 1400 kPa), com razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹, no intervalo de temperatura de 25 a 600 °C no modo não isotérmico, e a 100 °C no modo isotérmico. Os valores do HPOIT foram determinados pela diferença do tempo onset e o tempo inicial (tempo em que a amostra atingiu a temperatura isoterma).

4.12. FORMULAÇÃO DAS BLENDS DE BIODIESEL DE QUIABO E DE SOJA

As blends de biodiesel etílico de soja (BES) e biodiesel etílico de quiabo (BEQ) foram preparadas pela adição de 50 e 25% (v/v) de biodiesel de quiabo ao biodiesel de soja, sendo denominadas de BSQ₅₀ e BSQ₂₅, respectivamente, Figura 4.4.

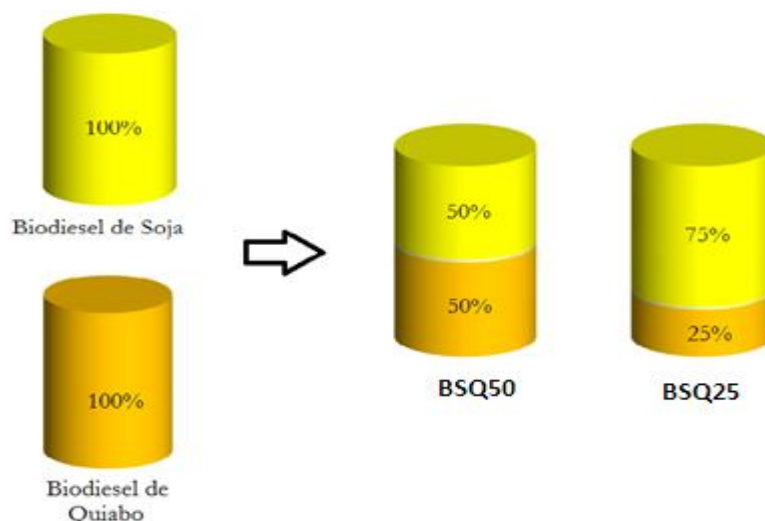


Figura 4.4 - Esquema ilustrativo da preparação das blendas de biodiesel etílico de quiabo e soja (v/v).

4.13. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE ÉSTERES ETÍLICOS DAS BLENDA DE BIODIESEL

A composição graxa das blendas dos biodieseis de quiabo e soja foi determinada por cromatografia gasosa de acordo com a metodologia descrita no item 4.6.2.

4.14. PROPRIEDADES DE FLUXO DAS BLENDA DE BIODIESEL

As blendas de biodiesel etílico de soja e de quiabo foram avaliadas quanto a suas propriedades de fluxo: viscosidade cinemática, ponto de névoa, ponto de fluidez e ponto de entupimento de filtro a frio. Com metodologia acordada nos itens 4.10.1, 4.10.2 e 4.10.3 respectivamente.

4.15. TESTES DE OXIDAÇÃO ACELERADA DAS BLENDA DE BIODIESEL

Os ensaios de determinação da estabilidade oxidativa das blendas de biodiesel etílico de soja e de quiabo foram realizados pelos métodos Rancimat, PetroOxy e PDSC, com metodologias descritas nos itens 4.11.1, 4.11.2 e 4.11.3.

As caracterizações efetuadas nas amostras de biodiesel de soja, quiabo e suas respectivas blendas estão apresentadas na Figura 4.5.

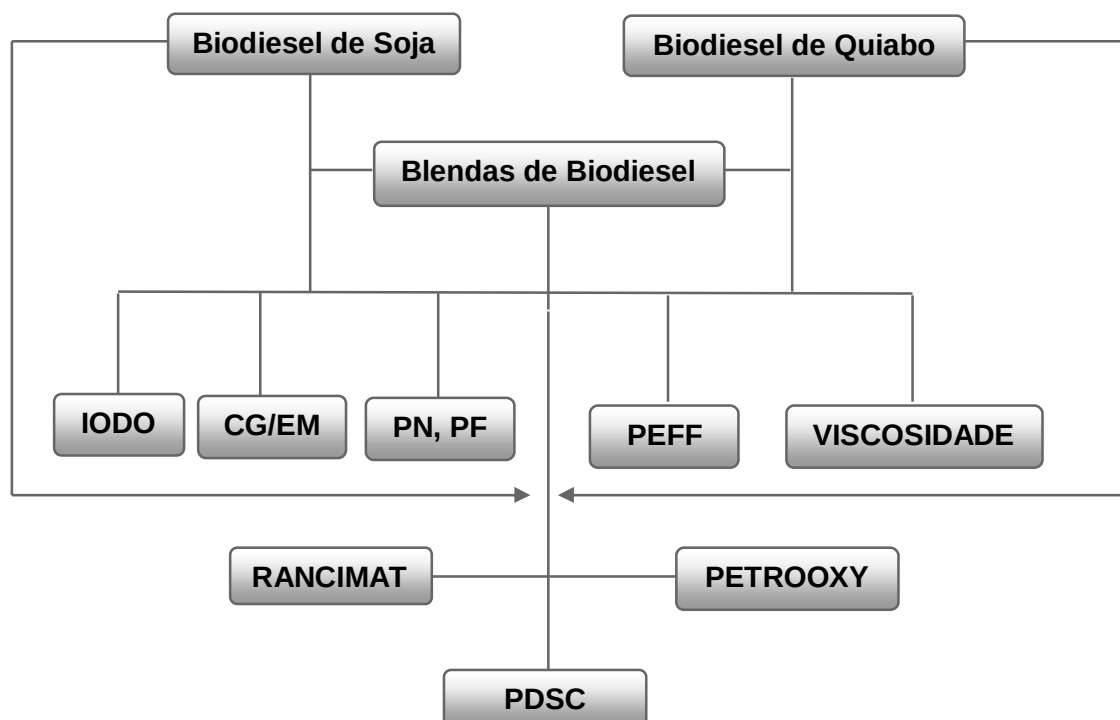


Figura 4.5 – Ensaio realizados em amostras de biodiesel e blends.

4.16. ADITIVAÇÃO DO BODIESEL ETÍLICO DE SOJA COM EXTRATOS ANTIOXIDANTES

Os extratos etanólicos do chá verde, da casca da romã e da casca do limão, e ainda as frações hexânica e clorofórmica do chá verde foram adicionados no biodiesel de soja nas concentrações de 500, 1.000, 1.500 e 2.000 mg kg⁻¹, (TABELA 4.2). A este também foi adicionado o antioxidante sintético TBHQ, utilizado como controle positivo, na concentração de 2000 mg kg⁻¹.

Para melhor incorporação dos extratos ao biodiesel os mesmos foram submetidos à agitação em aparelho ultrassom por alguns minutos.

Tabela 4.2 – Denominações das amostras de biodiesel etílico de soja com diferentes concentrações de extratos antioxidantes.

Amostra	Concentração mg.kg ⁻¹			
	500	1.000	1.500	2.000
Extrato Etanólico Chá Verde	BSECV500	BSECV1000	BSECV1500	BSECV2000
Extrato Etanólico Casca Romã	BSECR500	BSECR1000	BSECR1500	BSECR2000
Extrato Etanólico Casca Limão	BSELM500	BESLM1000	BSELM1500	BSELM2000
Extrato Hexânico Chá Verde	BSHCV500	BSHCV1000	BSHCV1500	BSHCV2000
Extrato Clorofórmico Chá Verde	BSCCV500	BSCCV1000	BSCCV1500	BSCCV2000

4.17 CARACTERIZAÇÃO DO BODIESEL ETÍLICO DE SOJA ADITIVADO COM EXTRATOS ANTIOXIDANTES

O biodiesel etílico de soja aditivado com diferentes concentrações de extratos naturais foi analisado quanto às propriedades oxidativas, utilizando-se os métodos acelerados Rancimat, PetroOxy e PDSC, conforme metodologia descrita nos itens 4.11.1, 4.11.2 e 4.11.3, sendo a temperatura de isoterma destas análises 110 °C. As amostras aditivadas com 2.000 mg kg⁻¹ também foram analisadas em relação à viscosidade cinemática, de acordo com metodologia referenciada no item 4.10.1. As análises realizadas nas amostras de biodiesel aditivadas estão representadas na figura 4.6.

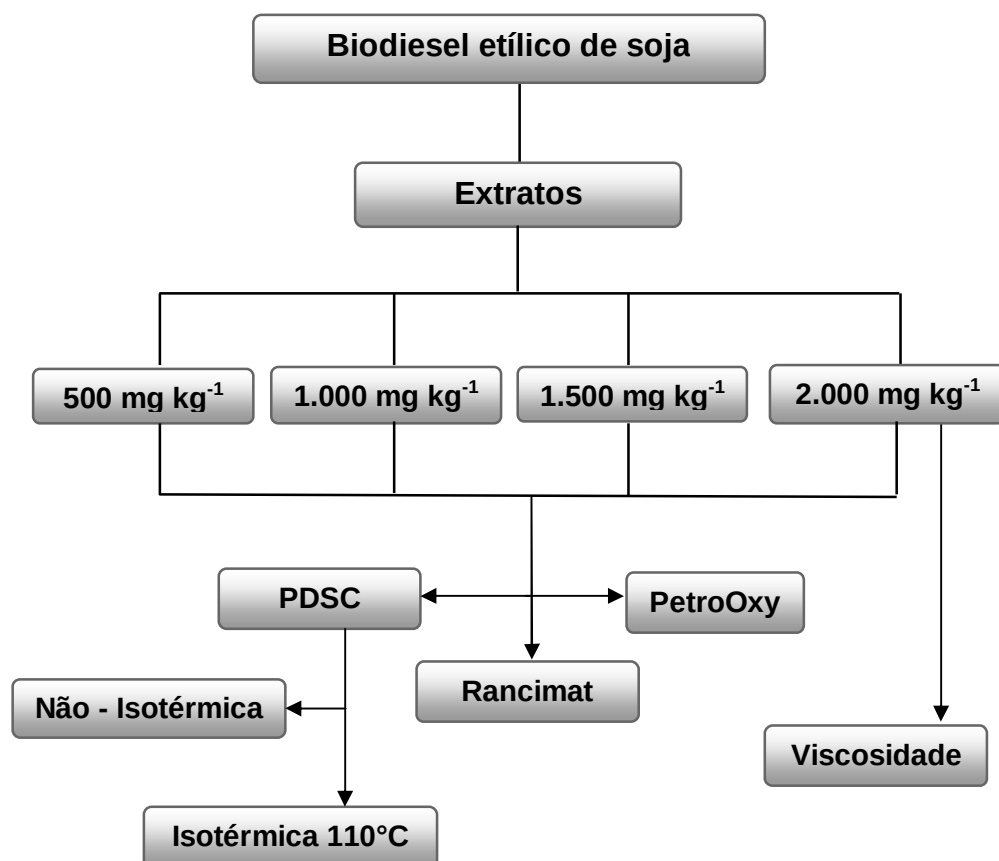


Figura 4.6 – Esquema dos ensaios realizados no biodiesel etílico de soja aditivado com antioxidantes naturais.

**C
A
P
Í
T
U
L
O
5**

**RESULTADOS E
DISCUSSÃO**

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. ÓLEO DE QUIABO

5.1.1. Rendimento da extração

As sementes de quiabo apresentaram um rendimento de 18% (m/m) em teor de óleo, concernente com os valores relatados na literatura que variam de 12% (ANWAR et al., 2011) a 20% (ANDRAS *et al.*, 2005), dependendo da variedade e da região de cultivo. Um rendimento satisfatório quando equiparado ao de oleaginosas que despontam como principais fontes para produção de biodiesel no Brasil, como a soja e o algodão, cujas sementes apresentam rendimento de óleo em torno de 18-20% (MORETTO e FETT, 1998).

5.1.2. Caracterização Físico-Química

5.1.2.1. Índice de Acidez

O óleo de quiabo, devido ao processo de extração química a qual foi submetido, apresentou acidez elevada, de 6 mg KOH g⁻¹, necessitando da realização do processo de neutralização. Após esse procedimento, a acidez do óleo atingiu o valor de 0,8 mg KOH g⁻¹, demonstrando o bom êxito do mesmo e uma adequação do índice de acidez para a síntese proposta.

Uma acidez adequada garante um rendimento satisfatório e a redução do tempo de reação de transesterificação, pois relatos da literatura (KWIECIEN et al., 2009) afirmam que óleos com acidez acima de 2 mg KOH g⁻¹, quando submetidos à catálise básica, comprometem o processo de transesterificação devido à ocorrência de reações paralelas, tais como a de saponificação, que diminui a conversão dos ácidos graxos em ésteres e dificulta ainda a separação das fases éster e glicerol.

5.1.2.2. Viscosidade

No óleo de quiabo constatou-se uma viscosidade cinemática de 31,09 mm² s⁻¹, valor que prediz um biodiesel com excelentes propriedades de fluxo. Visto que quando comparados a outras fontes de matéria-prima, observa-se uma similaridade de valores com óleos que propiciam biodiesel com propriedades de fluxo que atendem à especificação, tais como: soja (51,5), milho (38,4) e algodão (41,9), e uma diferença significativa quando comparado a mamona (74,6) e babaçu (57,7), que apresentam limitações em tais propriedades (VASCONCELLOS, 2009).

O estudo da viscosidade de óleos que visam à produção de biodiesel é necessário porque prenuncia o desempenho do biodiesel como combustível e ainda influencia o processo de síntese, pois óleos muito viscosos dificultam uma mistura homogênea com o alcóxido durante a transesterificação, requerendo um maior cuidado em relação à agitação e temperatura de reação.

5.1.2.3. Perfil Cromatográfico do Óleo

O processo de síntese do biodiesel e as propriedades combustíveis deste são influenciados, sobretudo, pela composição de ácidos graxos do óleo do qual deriva. Deste modo, a identificação dos constituintes graxos do óleo de quiabo foi feita utilizando a técnica de cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa e a quantificação dos constituintes realizada por normalização das áreas relativas dos picos cromatográficos. Constatou-se, a partir da análise destes dados, que a composição química do óleo de quiabo, Tabela 5.1, apresentou-se em média concordante com a literatura, (ANWAR, 2011), variando, contudo, na percentagem relativa de alguns ácidos graxos. Tal característica é observada em decorrência dos diferentes locais de cultivo das sementes, pois segundo Freire (2009), dependendo do tipo de solo e das condições edafoclimáticas em que a planta foi cultivada, uma oleaginosa absorverá os elementos químicos específicos daquele solo e apresentará seu óleo com distintos teores de ácidos graxos.

Tabela 5.1 - Composição percentual de ácidos graxos presentes no óleo de quiabo.

ÁCIDO GRAXO	Nº de Carbonos	Tempo de Retenção (min)	TEOR (%)	TEOR (Anwar et al., 2011)
Palmítico	C16:0	11,7	26,87	31,20
Palmitoléico	C16:1	11,9	0,62	0,30
Estearico	C18:0	13,5	4,84	4,90
Oléico	C18:1	13,8	21,25	28,19
Linoléico	C18:2	14,3	39,64	29,90
Eicosanóico	C20:0	15,3	0,72	0,87
Outros	-	-	6,06	3,95
SATURADOS			32,43	37,66
INSATURADOS			61,51	58,39

De acordo com os dados constantes na Tabela 5.1, o perfil de ácidos graxos do óleo de quiabo provavelmente irá conferir ao biodiesel derivado, excelentes propriedades de fluxo e uma estabilidade oxidativa distinta de óleos convencionais, como soja, milho e algodão, pois mesmo apresentando elevados teores de ácidos graxos insaturados, verifica-se uma quantidade significativa, do ácido oléico, monoinsaturado, e do ácido palmítico, saturado, que apresentam propensões à oxidação bem inferiores aos ácidos poliinsaturados, como o linoléico e linolênico.

5.2. BIODIESEL DO ÓLEO DE QUIABO

5.2.1. Determinação das características estruturais

5.2.1.1. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os dados espectroscópicos registrados no espectro de absorção na região do infravermelho, Figura 5.1, permitiu atribuir ao produto da reação de transesterificação do óleo de quiabo características estruturais compatíveis com substância orgânica da classe dos ésteres, tais como: bandas intensas na região de 2.920 cm^{-1} e 2.850 cm^{-1} referente à deformação axial assimétrica e simétrica da ligação CH - (sp^3), banda em 1.735 cm^{-1} atribuível à deformação axial da ligação C=O, característica da presença de carbonila de éster, banda

média em 1.460 cm^{-1} , indicativa da deformação angular simétrica da ligação C-H de grupo metileno, CH_2 , próprio da cadeia hidrocarbônica dos ésteres de ácidos graxos, banda média em 1.117 cm^{-1} referente a absorção média axial da ligação C-O de ésteres e uma banda discreta em 717 cm^{-1} inerente à deformação angular simétrica no plano confirmando a presença do grupo metileno, CH_2 .

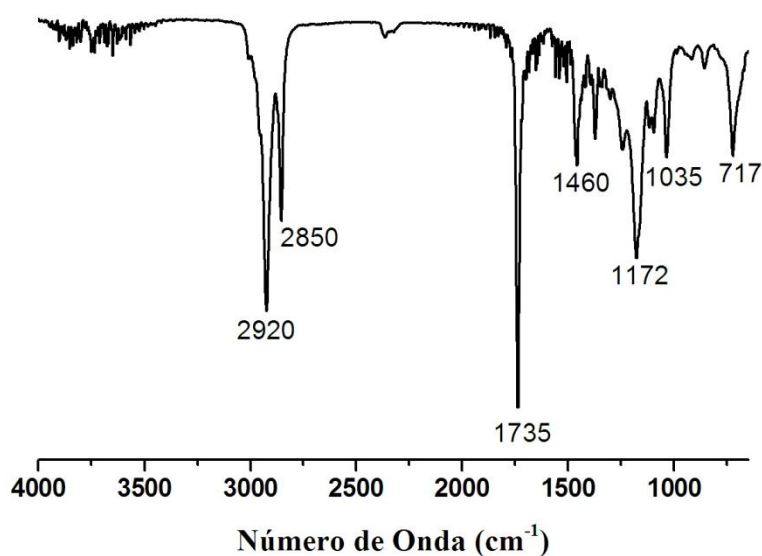


Figura 5.1 – Espectro de absorção na região do infravermelho do biodiesel etílico de quiabo.

5.2.1.2 Composição química de ésteres etílicos por CG-MS

O perfil cromatográfico do biodiesel do óleo de quiabo, apresentado na Tabela 5.2, evidencia composição similar aos ésteres do óleo de origem, e ao relatado recentemente na literatura para os ésteres metílicos do óleo de quiabo (ANWAR et al., 2010).

Tabela 5.2 – Composição química do biodiesel etílico de quiabo por CG-MS.

ÉSTERES DE ÁCIDOS GRAXOS	Nº de Carbonos	Tempo de Retenção (min)	TEOR (%)	Anwar et al., (2010)
Palmitato de Etila	C16:0	12,1	30,44	30,23
Estearato de Etila	C18:0	13,9	3,52	4,93
Oleato de Etila	C18:1	14,2	24,63	29,09
Linoleato de Etila	C18:2	14,6	40,79	30,31
Eicosanoato de Etila	C20:0	15,8	0,39	0,73
Outros	-	-	0,23	4,71
SATURADOS			34,35	35,89
INSATURADOS			65,42	59,40

5.2.2. Propriedades físico-químicas do biodiesel do óleo de quiabo

As propriedades físico-químicas, dentre estas as de fluxo, são parâmetros fundamentais para prever as propriedades combustíveis do biodiesel. O biodiesel do óleo de quiabo foi avaliado de acordo com as especificações da ANP e como mostrado na Tabela 5.3, o mesmo atende a todos os limites especificados para a comercialização.

Tabela 5.3 – Propriedades físico-químicas do biodiesel de óleo de quiabo.

PARÂMETROS	BIODIESEL DE QUIABO	LIMITE ANP	MÉTODOS
Acidez (mg KOH g ⁻¹)	0,4	0,5	ASTM D-664
Iodo (mg I ₂ 100g ⁻¹)	138	-	EN 14111
Viscosidade (mm ² s ⁻¹)	4,72	3,0-6,0	ASTM D-445
PN (°C)	20	-	ASTM D-2500
PEFF (°C)	12	19	ASTM D-6371
PF (°C)	8	-	ASTM D-97

A viscosidade cinemática representa um parâmetro crítico para o biodiesel, por afetar os sistemas de bombeamento e injeção em motores, podendo comprometer ainda a atomização do combustível. Para o biodiesel etílico de quiabo verificou-se que este parâmetro com um valor de 4,72 mm² s⁻¹ atende a especificação vigente (3,0 a 6,0 mm² s⁻¹) e demonstra ainda a

eficiência do processo de síntese pela redução deste valor em relação ao óleo ($31,09 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$). O resultado deste parâmetro relaciona-se diretamente com a grande quantidade de cadeias graxas insaturadas (oléico e linoléico) presentes na composição do biodiesel. De acordo com Pontes (2010), a presença de insaturações altera a conformação das cadeias hidrocarbônicas, tornando as forças intermoleculares menos efetivas por desfavorecimento estérico, dificultando o empacotamento das moléculas e consequentemente reduzindo sua viscosidade.

O oleato, mesmo apresentando uma insaturação em sua estrutura (configuração *cis*), origina fortes interações intermoleculares entre os elétrons π das ligações duplas que propicia um empacotamento entre as moléculas e consequente aumento da viscosidade. No caso dos ésteres poliinsaturados, devido à geometria espacial de suas cadeias, apresentam interações entre os orbitais π bastante diminuída, com fracas forças intermoleculares, do tipo Van der Waals, resultando em um empacotamento bastante dificultado e uma consequente redução na viscosidade do composto.

O biodiesel de quiabo apresentou viscosidade bem inferior ao biodiesel produzido a partir do óleo de mamona, que foi citada por Dantas (2011) com um valor de $14,58 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$, decorrente do alto percentual, 85,8%, do éster ricinoleato. Em contrapartida, o biodiesel de quiabo mostrou-se mais viscoso que o biodiesel proveniente do óleo de girassol ($4,5 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$), e óleo de soja ($4,3 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$), já que este contém quantidades elevadas de linoleato e reduzidos valores de estearato e palmitato (KNOTHE, 2006; FERRARI e SOUZA, 2009).

Os valores de ponto de névoa, fluidez e ponto de entupimento de filtro a frio do biodiesel de quiabo apresentaram-se bem elevados quando comparados com outras amostras de biodiesel que apresentam composição graxa similar, a exemplo do biodiesel de algodão (RASHID et al., 2009). Como esta propriedade é muito influenciada por componentes graxos saturados, possivelmente estes valores correlacionam-se com a elevada quantidade de palmitato presente (30,44%), pois ésteres etílicos saturados, devido à facilidade de interação de suas cadeias, são mais propensos à nucleação e posterior cristalização a baixas temperaturas, restringindo, assim a circulação do combustível pelos filtros e sistema de alimentação durante a partida do motor.

Cardoso e colaboradores (2006) estudaram alguns aspectos que influenciam os parâmetros de fluxo a frio do biodiesel, demonstrando que a composição graxa é o fator preponderante, principalmente no que diz respeito aos ésteres alquílicos. Desta forma, estudos remetem à utilização de processos que melhorem tais propriedades, a exemplo da winterização, que consiste num processo de resfriamento lento do biodiesel, onde os ésteres saturados são cristalizados e separados da mistura a partir da diferença de fase. (DUNN et al., 1996;. LEE et al., 1996). Este processo apresenta como desvantagem o aumento percentual de ésteres insaturados no biodiesel, que elevaria sua propensão aos processos oxidativos.

Outra alternativa reside na adição de aditivos, que apresentem a propriedade de retardar ou modificar a cristalização dos constituintes parafínicos do biodiesel, melhorando as suas propriedades de fluxo (SILVA et al., 2004). Contudo, o biodiesel de quiabo mesmo apresentando propriedades de fluxo a frio elevadas, atende ao valor especificado pela ANP para as regiões Sul, Sudeste, Centro-Oeste, não havendo necessidade da utilização dos procedimentos descritos anteriormente.

5.2.3. Estabilidade oxidativa do biodiesel do óleo de quiabo

A estabilidade oxidativa do biodiesel de óleo de quiabo foi determinado usando-se os métodos de oxidação acelerados Rancimat, PetroOxy e a técnica PDSC. Os dados destes ensaios, constantes na Tabela 5.4 e Figura 5.2 mostram uma estabilidade oxidativa do biodiesel elevada, levando-se em conta seu perfil de ácidos graxos, 65,42% de ésteres insaturados. Revelando um período de indução no rancimat (7,54h) maior do que outras amostras de biodiesel que apresentam constituição graxa análoga ao mesmo, como a soja (2,26 h) (DANTAS, 2011) e o girassol (1,17h) (FERRARI e SOUZA, 2009).

O petroOxy e a PDSC apresentaram período de indução e tempo de indução oxidativa respectivamente elevados, mas com valores inferiores ao rancimat visto as condições de maior criticidade impostas nestes ensaios.

Tabela 5.4 - Períodos de Indução do biodiesel de quiabo através das técnicas Rancimat e PetroOxy.

ENSAIO	PERÍODO DE INDUÇÃO	
RANCIMAT	7,54 h	
PETROOXY	1,52 h	
PDSC	OT	HPOIT (100°C)
	156,1 °C	284,58 min

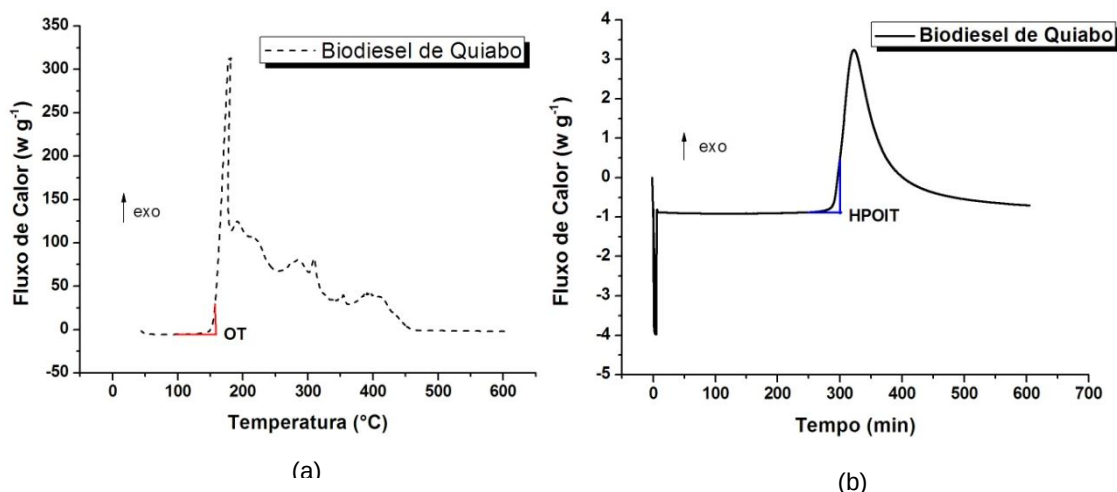


Figura 5.2 – Curvas PDSC do biodiesel etílico de quiabo. (a) não-isotérmica (b) isotérmica a 100°C.

Esse fato pode ser explicado pela presença proeminente no biodiesel de quiabo dos ésteres palmitato e oleato que podem vir a contribuir, devido as suas menores propensões à oxidação, para o aumento da estabilidade oxidativa deste biodiesel. Contudo, em termos de composição graxa uns dos fatores principais é a ausência de ésteres linolenato, que apresenta-se bem mais reativo do que os ésteres oleato e linoleato. Isto porque a abstração dos hidrogênios nas posições bis-alílicas são preferenciais devido à menor energia de dissociação dessas ligações quando comparadas as posições meramente alílicas, com valores de 65 e 77 kcal mol⁻¹ respectivamente (SHAHIDI, 2004). Knothe (2006) referenciou ainda as velocidades relativas de oxidação de oleatos (1), linoleatos (41) e linolenatos (98) corroborando com as energias de dissociação já que o éster de ácido graxo linolênico apresenta duas posições *bis*-alílicas e, conseqüente maior propensão a oxidação.

Outro fator que possivelmente interfere na estabilidade oxidativa deste biodiesel é a presença em sua constituição de elevadas quantidades de polifénóis (SHUI e PENG, 2004; HUANG et al., 2007; ARAPITSAS, 2008) e α -tocoferol (KARAKOLTSIDIS e CONSTANTINIDIS, 1975). Anwar e colaboradores (2011) quantificaram recentemente o teor de tocoferóis presente no óleo de quiabo e verificaram que este apresenta uma quantidade bastante significativa, principalmente de α – tocoferol, que foi quantificado numa média entre as variedades estudadas de (653-696 mg kg⁻¹), valor este muito superior aos encontrados para o óleo de soja (99,5 mg kg⁻¹), milho (282 mg kg⁻¹), algodão (338 mg kg⁻¹) e palma (89 mg kg⁻¹).

Em estudos anteriores, Shui e Peng (2004) identificaram alguns flavonóides presentes no quiabo, como a epigolacatequina, quercetina e seus derivados. Verificaram que a quercetina, era responsável por cerca de 70% da atividade antioxidante total no quiabo. Esta composição também foi referenciada por Huang et al (2007), que referenciou uma quantidade significativa de quercetina neste vegetal.

Neste trabalho, não foi feita nenhuma análise que identificasse ou quantificasse a presença destes compostos antioxidantes no óleo ou no biodiesel do óleo de quiabo. Entretanto, estes compostos, em pequenas quantidades, podem estar presentes neste biodiesel conferindo uma estabilidade oxidativa dentro dos parâmetros especificados pela ANP, sem que seja necessário o uso de aditivos antioxidantes.

5.3. BLENDA DE BIODIESEL DE QUIABO E SOJA

5.3.1. Constituição de ésteres etílicos

A partir da análise das propriedades do biodiesel etílico do óleo de quiabo constatou-se que o mesmo por apresentar excelentes propriedades oxidativas e de fluxo, poderia ser utilizado em misturas com o biodiesel de soja, que atualmente constitui a principal matéria-prima para produção do biodiesel no Brasil e que apresenta propriedades oxidativas que não se adequam as especificações de comercialização estabelecidas pela ANP.

Neste sentido, através da análise da composição de ésteres de ácidos graxos, Tabela 5.5, constatou-se um alto percentual de ácidos graxos insaturados, oleato, linoleato e linolenato no biodiesel de soja, responsável em parte por sua alta susceptibilidade aos processos oxidativos.

Tabela 5.5 - Composição das amostras de BEQ, BS100 e blendas determinadas por CG-MS.

Composição de Ésteres Etílicos dos Biodieseis e suas Blendas (%)							
Amostra	Palmitato	Estearato	Eicosanoato	Oleato	Linoleato	Linolenato	Outros
BEQ	30,44	3,69	0,39	24,63	40,79	-	0,06
BS100	10,95	3,99	-	25,57	53,30	6,09	0,10
BSQ₂₅	17,36	4,29	0,42	26,56	46,20	5,17	0,09
BSQ₅₀	21,42	4,42	0,50	25,02	40,44	4,59	3,61

Na Figura 5.3 consta o perfil cromatográfico das blendas, onde pode ser visualizado um elevado aumento na quantidade de palmitato de etila, assim como a diminuição de linoleato e linolenato de etila à medida que aumenta a percentagem de biodiesel de quiabo na blenda com a soja. Além disso, verificam-se modificações nas quantidades de estearato e oleato de etila. Tais variações na composição química das blendas influenciaram as propriedades físico-químicas destas amostras.

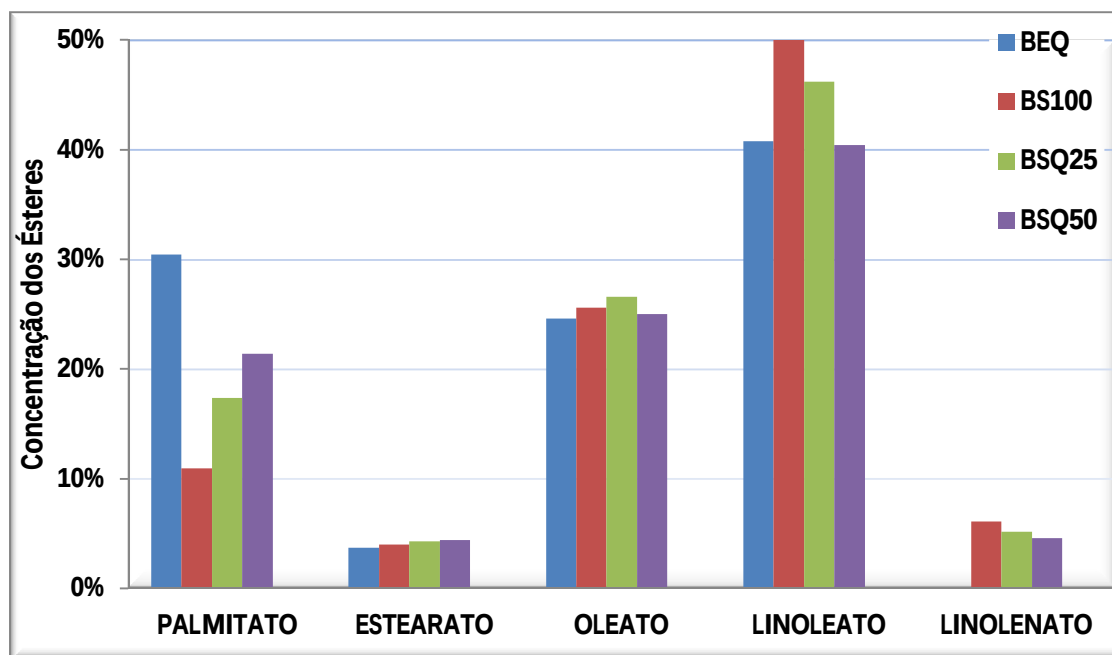


Figura 5.3 – Perfil dos componentes do biodiesel etílico de quiabo, soja e blendas.

5.3.2. Propriedades de Fluxo das Blendas

A viscosidade cinemática do biodiesel varia em função das cadeias carbônicas dos seus ésteres constituintes. Assim, a partir dos resultados obtidos neste trabalho, Figura 5.4, verifica-se que o biodiesel de soja apresenta viscosidade inferior ao biodiesel de quiabo, resultante dos altos valores de linoleato e linolenato e pequenos valores de estearato e palmitato. Com a adição do biodiesel de quiabo na soja, nas proporções de 25 e 50% observa-se um aumento significativo na viscosidade, devido um acréscimo bastante proeminente de ésteres palmitato na blenda e uma redução no linoleato e linolenato, além de que as concentrações do estearato e oleato permanecem praticamente equiparadas.

Estas observações corroboram com os estudos de Garcia (2006) que evidenciou que os ésteres que mais contribuem para o aumento da viscosidade são o estearato, seguido do oleato e do palmitato. Em contrapartida, a presença de insaturações na cadeia tende a reduzir a viscosidade dos respectivos compostos.

Contudo, mesmo com o aumento da viscosidade das blendas em relação ao biodiesel de origem, todas as amostras atenderam os limites ($3 - 6 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$) especificados pela ANP.

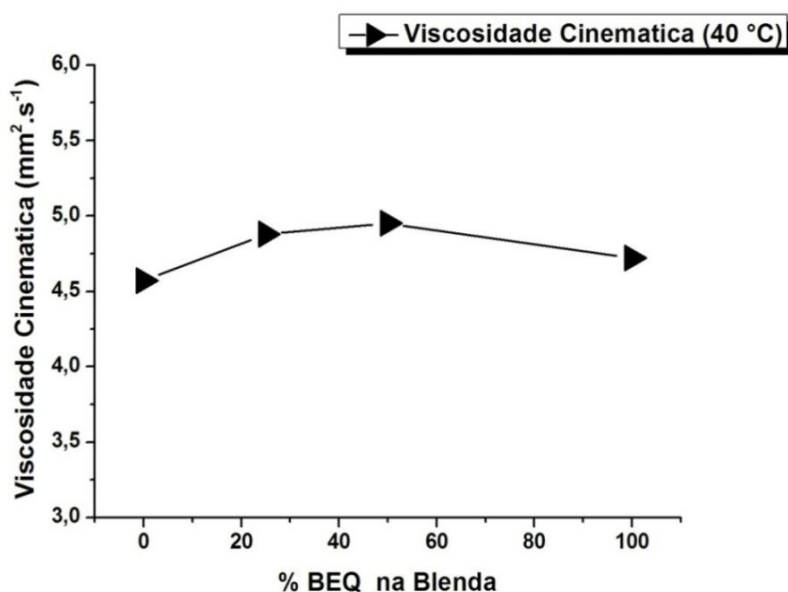


Figura 5.4 – Viscosidade cinemática do biodiesel etílico de quiabo e soja e blendas.

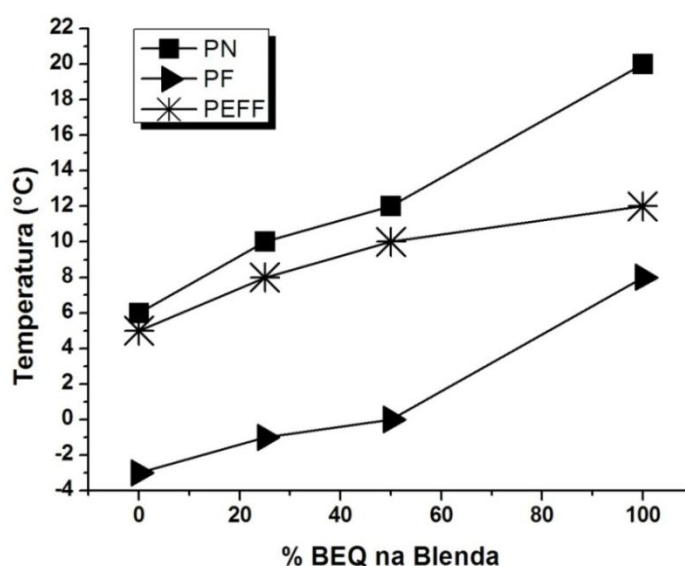
Devido evidências da influência inversa da temperatura na viscosidade do combustível, tornou-se necessário a avaliação de outras propriedades de fluxo do biodiesel com a finalidade de viabilizar sua utilização a baixas temperaturas e ao mesmo tempo assegurar a não ocorrência de problemas como os de ignição e desempenho no sistema do veículo. Os parâmetros analisados foram o ponto de névoa, ponto de fluidez e ponto de entupimento de filtro a frio.

De acordo com a Tabela 5.6, verificou-se que os valores de ponto de névoa e de fluidez estão em concordância com os valores de ponto de entupimento de filtro a frio, e estes por sua vez, atendem aos limites especificados pela ANP (19°C), indicando que os biodieseis e blendas apresentam-se aptos para comercialização nas regiões delimitadas pela especificação.

Tabela 5.6 – Propriedades de fluxo a frio do biodiesel etílico de quiabo, soja e blends.

Amostras	Parâmetros		
	PN (°C)	PEFF (°C)	PF (°C)
BEQ	20	12	8
BS100	6	5	-3
BSQ₂₅	10	8	-1
BSQ₅₀	12	10	0

Como exposto anteriormente, o biodiesel do óleo de quiabo apresenta propriedades de fluxo elevadas, que resultam provavelmente das altas concentrações de palmitato e oleato. E o que foi notado com a adição gradual de biodiesel de quiabo ao biodiesel de soja foi que todas apresentaram a mesma tendência de aumento das temperaturas, Figura 5.5.

**Figura 5.5** – Tendência das propriedades de fluxo com a adição do biodiesel de quiabo na blenda.

Relacionando estes resultados com a composição química destas amostras verificou-se que este aumento deriva do decaimento da concentração dos compostos insaturados e elevação dos compostos saturados quando equiparados ao biodiesel do óleo de soja.

De acordo com Ramalho (2008), existe uma correlação entre as propriedades de fluxo a frio e as transições analisadas por calorimetria

exploratória diferencial com modulação de temperatura, onde se verifica que o ponto de névoa está diretamente relacionado com o primeiro pico de cristalização, não sendo apenas a formação do primeiro cristal, como normalmente é reportado. O ponto de entupimento de filtro a frio localiza-se entre o primeiro e o segundo pico de cristalização e o ponto de fluidez entre o segundo e o terceiro pico, indicando que uma boa parte do combustível solidifica antes que o combustível pare de fluir. Estas observações corroboram com as análises do biodiesel do óleo de quiabo, cujos valores destes parâmetros se comportam do seguinte modo: $PN > PEFF > PF$.

5.3.3. Estabilidade oxidativa do biodiesel etílico de quiabo, soja e blendas

O conhecimento da estabilidade oxidativa do biodiesel é de fundamental importância para a definição das condições e tempo de estocagem. Neste contexto utilizou-se o biodiesel do óleo de quiabo em mistura com o biodiesel do óleo de soja (blenda), analisando-se o impacto desta mistura, em proporções variadas através do Rancimat, PetroOxy e PDSC. Os dados, Tabela 5.7, mostram um comportamento esperado, onde o biodiesel de soja apresenta um período de indução inferior ao biodiesel de quiabo, pelos motivos já expostos anteriormente. Com a adição de 50% de biodiesel de quiabo no biodiesel de soja ocorre um aumento considerável do período de indução da amostra, e isto pôde ser visto nas três técnicas utilizadas. A explicação para tal fato possivelmente é a diminuição expressiva de linolenato e linoleato e um aumento significativo de palmitato, com aproximadamente o dobro do valor. Outro fato a ser levado em consideração é o aumento na concentração de compostos antioxidantes naturais, provenientes do óleo de quiabo, ainda presentes no biodiesel, que promoveram uma inibição dos processos oxidativos na mistura.

Tabela 5.7 – Valores de PI e HPOIT do biodiesel etílico de quiabo, soja e blendas pelo Rancimat, PetroOxy e PDSC.

AMOSTRA	PI (h)		HPOIT (min)
	Rancimat	PetroOxy	PDSC
BEQ	7,54	1,52	284,6
BS100	3,11	0,82	257,5
BSQ50	5,80	1,42	271,9
BSQ25	2,15	0,35	75,9

A blenda de 25% apresentou resultado inverso ao esperado, pois o perfil de ácidos graxos da mistura indica uma estabilidade oxidativa pouco superior ao biodiesel do óleo de soja, provocada pela diminuição dos percentuais dos ésteres linoleato e linolenato, contudo esta amostra apresentou efeito pró-oxidante ao biodiesel de soja. Uma possível explicação reside no fato de que os compostos antioxidantes constituintes do biodiesel de quiabo, estando em quantidade mínima na mistura, não haja de forma efetiva, ou sofram degradação térmica ocasionada pela elevação da temperatura, como é o caso dos tocoferóis e da quercetina, antioxidantes naturais presentes no quiabo. Tal explicação corrobora com o estudo de Ramalho e Jorge (2006) que afirmam que o α -tocoferol pode atuar como antioxidante ou pró-oxidante dependendo do sistema testado, da concentração, do tempo de oxidação e do método usado para acompanhar os estágios oxidativos. Assim, possivelmente devido à temperatura e pressão imposta nos ensaios, os antioxidantes se degradam de forma mais expressiva desencadeando as reações radicalares em velocidades superiores, não restando ao meio em uma concentração adequada de proteção antioxidativa.

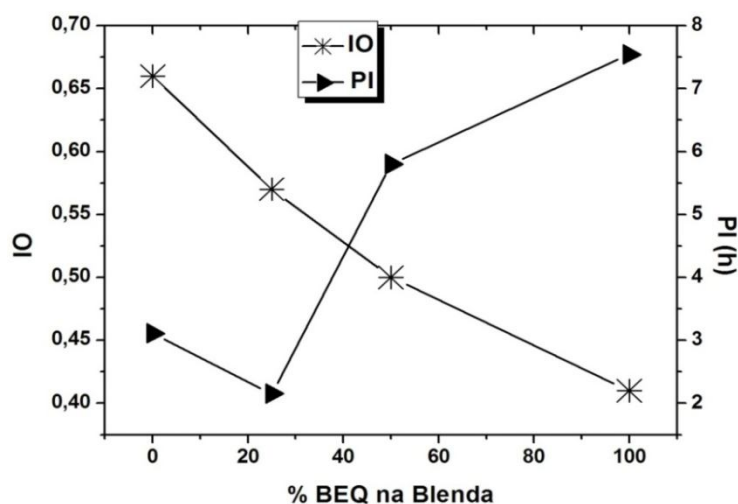
Para melhor verificar a influência dos componentes graxos na estabilidade oxidativa dos biodieseis e blendas calculou-se o índice de oxidação das amostras (WAYNICK, 2005), Equação 5.1, correlacionando a susceptibilidade destas amostras com o percentual de cada éster insaturado. Os resultados estão expressos na Tabela 5.8.

$$\text{Índice de oxidação (I.O)} = [0,02(\% \text{oléico}) + 1(\% \text{linoléico}) + 2 (\% \text{linolênico})]/100 \quad \text{Eq 5.1}$$

Tabela 5. 8 – Índice de Oxidação (I.O) para o biodiesel etílico de quiabo, soja e blendas.

AMOSTRAS	I.O
BEQ	0,41
BS100	0,66
BSQ ₂₅	0,57
BSQ ₅₀	0,50

Os resultados tabelados mostraram a tendência a maior propensão à oxidação das amostras com o aumento do teor de éster de ácido graxo linolênico, com exceção apenas para a amostra com 25% de biodiesel de quiabo que não respondeu da forma esperada, havendo um aumento no período de indução com a diminuição do I.O, Figura 5.6.

**Figura 5.6** – Índice de oxidação em função do período de indução para o biodiesel etílico de soja, quiabo e blendas.

A análise dos dados obtidos pelo Rancimat, Figura 5.7, permitiu observar que os períodos de indução do biodiesel de soja e da blenda com 25% de biodiesel de quiabo apresentam diferenciação menor que uma hora, que levando em consideração as condições de experimentos não é um valor considerado pronunciado. Assim como a adição de 50 % de biodiesel de quiabo no biodiesel de soja é ineficiente, visto que a mesma não consegue adequar os valores ao normatizado pela ANP para a comercialização do biodiesel, sendo necessário a adição de um corretivo antioxidante para a mistura.

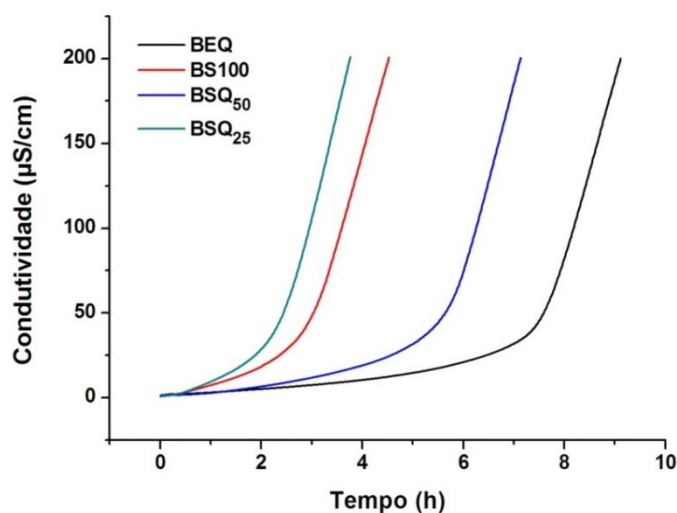


Figura 5.7 – Curvas do Rancimat e respectivos períodos de indução do biodiesel de quiabo, soja e blends.

Nos resultados de PetroOxy, Figura 5.8 a, e PDSC, Figura 5.8 b, verifica-se uma mesma tendência. Entre eles verifica-se que a PDSC apresenta HPOIT com valores mais elevados, visto que mesmo a pressão (1.400 kPa) sendo superior do que a atingida pelo PetroOxy (700 kPa) utilizou-se uma temperatura de isoterma de apenas 100°C, inferior a utilizada no PetroOxy, 110°C, podendo ser evidenciado o grande efeito catalítico da temperatura nos processos oxidativos.

Cabe ainda ressaltar que a maior diferença entre os valores de estabilidade oxidativa, comparando a blenda BSQ₂₅ e o biodiesel de soja, foi verificado na técnica PDSC, este fato pode ser atribuído à presença dos produtos primários da autooxidação que são correlacionados nesta técnica e não nas outras duas, Rancimat e PetroOXY.

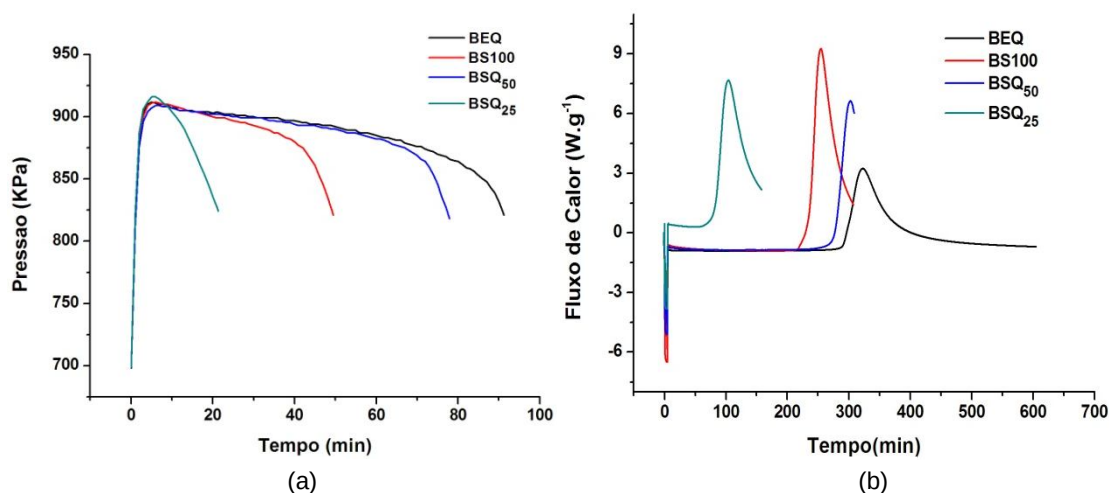


Figura 5.8 – Curvas de PetroOxy (a) e PDSC isotérmico (b) dos biodieseis e blendas.

5.4. CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS ANTIOXIDANTES

O caráter hidrofílico dos antioxidantes fenólicos presentes nos extratos etanólicos conferiu a estes pouca solubilidade na matriz biodiesel. Assim, utilizou-se e verificou-se a influência positiva do emulsificante tween 20 na solubilidade destes compostos. Um efeito eficaz, para o extrato de chá verde e, parcial, para os extratos de romã e de limão.

Em relação ao fracionamento em coluna de sílica, deve-se ressaltar que este procedimento só foi possível para o chá verde, pois o rendimento do extrato da casca do limão é baixo, apresentando insuficiência para submissão à técnica de cromatografia empregada. Em contrapartida, o extrato da romã por ser constituído de substâncias com polaridade elevada apresentou alta retenção na sílica, tornando inviável a utilização deste processo.

Das frações de chá verde obtidas foram solúveis apenas as frações hexânica e clorofórmica. As duas restantes foram insolúveis no biodiesel mesmo com a utilização do emulsificante tween 20.

5.4.1. Atividade Antioxidante

5.4.1.1. Cinética de Reação do DPPH

A avaliação cinética da reação dos antioxidantes utilizados neste trabalho foi realizada visando uma verificação do tempo necessário para a eficácia do antioxidante frente ao radical DPPH. Neste contexto, os dados constantes no gráfico da cinética de reação do DPPH, Figura 5.9, mostram que praticamente todos os extratos analisados apresentaram reação estabilizada até os 60 minutos. Nesta relação exclui-se a fração clorofórmica do chá verde que estabilizou apenas aos 75 min. Pôde-se evidenciar ainda que dentre todas as amostras, a que apresentou melhor cinética foi o extrato etanólico de chá verde que nos primeiros minutos já conseguiu promover um decaimento drástico na absorbância do DPPH, estabilizando a reação no decorrer de apenas 15 min. Esse resultado é coerente com os estudos de Bracesco et al. (2003) que ao construir uma curva cinética de captação do DPPH para o chá verde pôde observar uma queda acentuada da absorbância no primeiro minuto de reação.

Estes resultados podem estar diretamente relacionados tanto com os mecanismos de reação que ocorrem entre o radical DPPH e as substâncias antioxidantes, que dependendo da conformação estrutural dos compostos envolvidos, implica em uma cinética diferenciada, quanto pela possível diferenciação no teor dos compostos fenólicos presentes nestas amostras. Assim, os antioxidantes presentes no extrato etanólico de chá verde provavelmente interagem de forma mais efetiva com o radical DPPH do que os presentes nos demais extratos, bem como nas frações hexânica e clorofórmica do referido extrato.

Todos os extratos em estudo, exceto o extrato etanólico de chá verde, que apresentou uma cinética rápida, apresentaram uma cinética de intermediária a lenta.

Tal fato não remete a conclusão de extratos ineficientes, já que substâncias com ação antioxidante comprovada como o BHA apresentam de acordo com estudos de Carpes et al. (2008), uma cinética de 2h, muito superior a vários outros antioxidantes estudados. Vale ressaltar ainda que Kuskoski et

al. (2005), verificaram que diversas polpas de frutas apresentam maior atividade antioxidante em um período reacional maior que 60 min, relatando que isto ocorre devido à variedade de compostos de diferentes cinéticas estarem presentes nestas frutas.

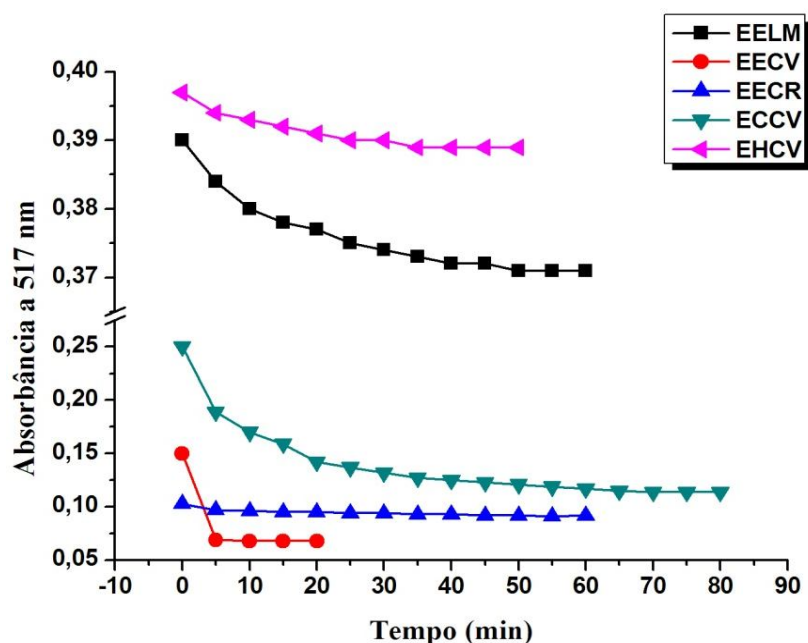


Figura 5.9 – Cinética de redução do radical livre DPPH pelos extratos vegetais

5.4.1.2. Determinação da atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH.

A capacidade dos extratos vegetais em estudo de sequestrar o radical livre DPPH está apresentada na Figura 5.10. Nesta, observa-se que o EECV foi o que apresentou melhor atividade antioxidante, com um valor bastante superior aos demais analisados e a outras fontes que já foram avaliadas em estudos anteriores, a exemplo da *T. Brasilienses* e *C. Macrophyllum* que numa concentração de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ apresentaram atividade antioxidante de 91 e 60%, respectivamente. Além da superioridade sobre antioxidantes padrões de ações efetivas como o ácido gálico e a rutina que apresentaram atividades antioxidantes de 94,4 e 89,2%, respectivamente (SOUSA et al., 2007).

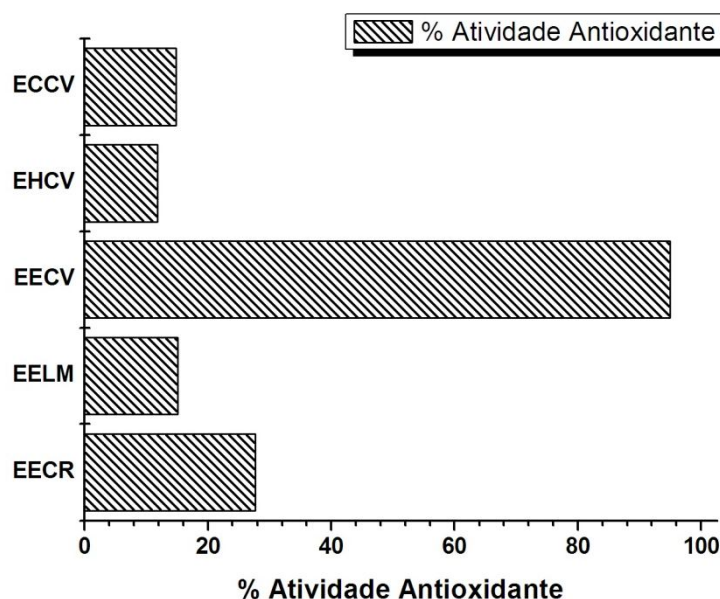


Figura 5.10 – Percentual da Atividade Antioxidante dos Extratos vegetais.

A alta atividade antioxidante do chá verde pode estar diretamente relacionada aos seus compostos fenólicos predominantes, a exemplo do ácido gálico, quercetina, miricetina e principalmente as catequinas, epigallocatequinas (EGCG), galato-3-epicatequina (EGC), epicatequina (EC) e epigallocatequina (ECG) (LIMA et al., 2004; SHAIDI, 2004), que atuam como antioxidantes potentes devido a facilidade de abstração de seus hidrogênios fenólicos e seu baixo potencial redox, capaz de reduzir os radicais livres altamente oxidante.

Em relação às frações obtidas do chá verde verificou-se que estas apresentam atividade antioxidante bastante inferior ao extrato bruto. Isso remete ao fato que, neste caso, as substâncias menos polares apresentam menor poder antioxidante, sendo menos efetivas na redução do radical DPPH. Esses resultados são concordantes com o estudo de Wu et al. (2004), que avaliando a ação antioxidante de algumas frutas, evidenciaram que a fração hidrofílica, na qual os compostos fenólicos predominavam, apresentou maior capacidade de sequestro do radical livre do que as frações lipofílicas. Os autores ressaltaram ainda que os compostos fenólicos da fração hidrofílica são os responsáveis por mais de 90% da capacidade antioxidante das frutas estudadas.

Diante do exposto, deve-se ressaltar a observação conclusiva de Estrella et al. (2008), que afirmam que a natureza dos fenóis é o fator que influencia diretamente a atividade antioxidante de um composto.

Os EECR e EELM mesmo apresentando valores muito inferiores ao EECV proporcionaram atividade antioxidante considerável, sendo de sobremaneira reflexo do tipo e quantidade de fenólicos presentes.

Para os extratos também foi determinado o EC_{50} , Tabela 5.9, concentração de um antioxidante necessária para diminuir 50% da concentração inicial do DPPH. Quanto menor o valor do EC_{50} maior será a atividade antioxidante. De acordo com estes valores, verificou-se a superioridade do EECV pelo baixo valor apresentado, e pequenas diferenciações entre os demais extratos, exceto para a fração hexânica do chá verde. Verifica-se então, que não ocorre uma correlação direta entre a porcentagem da atividade antioxidante e o EC_{50} , pois neste há uma superestimação no valor da fração hexânica em relação aos demais extratos, enquanto no cálculo da porcentagem de atividade antioxidante os valores são bastante próximos. Da mesma forma, Kulisic et al. (2006) também não observaram relação entre os valores de EC_{50} e a porcentagem de inibição pelo método DPPH, pois foi encontrada eficiência de quase seis vezes em termos de EC_{50} para a infusão de orégano sobre a de falso-tomilho, entretanto nenhuma diferença foi observada quando os resultados foram expressos em termos de porcentagem de inibição.

Tabela 5.9 – Cálculo da porcentagem da atividade antioxidante (%AA) e do EC_{50} dos extratos vegetais.

AMOSTRA	%AA _{MÁX}	EC_{50} ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
EECR	27,69	10,20
EELM	15,08	13,70
EECV	95,00	0,678
EHCV	11,76	23,58
ECCV	14,80	13,64

Quando comparados estes dados com os da literatura, verifica-se que o EECV converge com o valor apresentado por Saldanha (2005), que determinou uma porcentagem de inibição de 95,70% numa concentração de 1mg mL^{-1} . O

extrato da romã de acordo com Ricci et al. (2006), apresenta um EC_{50} que varia de 7 a 15 mg mL⁻¹ dependendo do solvente empregado na extração e uma atividade antioxidante de acordo com Singh et al. (2002), de 23,2%, que corrobora com os valores encontrados. Não há relatos na literatura de valores de atividade antioxidante para extratos de limão da variedade siciliano, não sendo possível tentar correlacionar os dados obtidos.

Confrontando estes resultados com o de outros vegetais que apresentam atividade antioxidante evidenciada, como a camomila (EC_{50} – 47,41 mg mL⁻¹), carqueja (EC_{50} – 44,07 mg mL⁻¹) e cidreira (EC_{50} – 27, 29 mg mL⁻¹) (MORAIS et al., 2009), verifica-se que os extratos em estudo podem ser considerados como boas fontes de antioxidantes naturais, que podem em determinado meio agir de forma eficaz na inibição das reações radicalares.

5.4.2. Análise Termogravimétrica dos Extratos

Através da análise das curvas termogravimétricas, Figura 5.11, pôde-se evidenciar diferentes perfis de decomposição térmica dos extratos em estudo. Nestas foi observado que todos apresentaram mais de um evento de perda de massa, com exceção apenas para o antioxidante sintético TBHQ, pois o mesmo trata-se de uma substância pura de grau analítico.

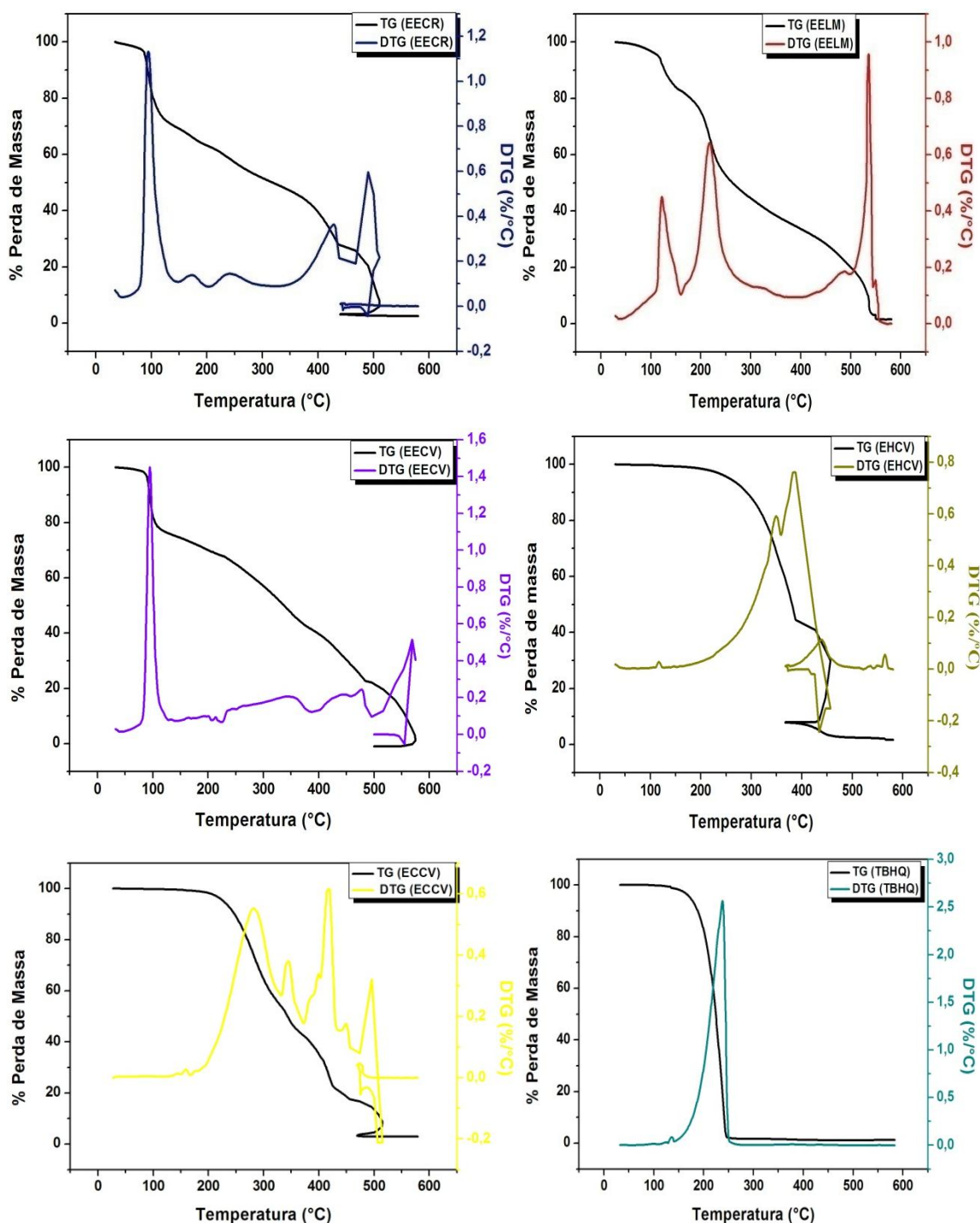


Figura 5.11 – Curvas TG para os extratos vegetais e antioxidante sintético TBHQ.

O extrato etanólico da casca da romã mostrou um evento importante em torno de 70,5 °C com perda de massa de 28%, representando o início do processo de decomposição térmica deste material. O extrato etanólico de limão mostrou-se mais termo-estável ao anterior com o primeiro evento de decomposição em torno de 93,9 °C com perda de massa de 16, 42%. O extrato

etanólico de chá verde apresentou menor resistência aos processos térmicos com temperatura inicial de decomposição em torno de 65,3 °C e perda de massa de 23,2%. Entretanto, as frações do chá verde mostraram-se muito mais termo-estáveis que seu extrato bruto, apresentando a primeira etapa de decomposição em torno de 117,9 °C e 150,2°C com perdas de massa de 36,7% e 45,6% para a fração hexânica e clorofórmica, respectivamente. Instigando a conclusão que no extrato bruto a diversidade e sinergismo das diferentes substâncias presentes, que se degradam em diferentes temperaturas, propiciam uma instabilidade térmica mais acentuada do que nas frações, que de certa forma, apresentam-se mais purificadas e com grupos de polaridades mais próximos.

O antioxidante sintético TBHQ apresentou o primeiro evento em temperatura bastante considerável em torno de 129,6 °C, com a respectiva perda de massa em torno de 97,6%, resultado esperado considerando que o mesmo trata-se de uma substância pura, que praticamente se decompõe em apenas uma faixa de temperatura, sendo mais termo-estável que praticamente todos os extratos vegetais estudados neste trabalho.

Os eventos de perda de massa referenciados para os extratos e substâncias em estudo referem-se possivelmente à decomposição térmica dos compostos fenólicos presentes, sendo tais diferenciações resultantes dos diferentes tipos e classes de compostos que constituem cada extrato. Vale ressaltar que apenas as frações do chá verde e o antioxidante sintético TBHQ apresentaram temperaturas superiores às empregadas nos ensaios de oxidação acelerada, 110 °C, utilizados para análise da estabilidade oxidativa dos biodieseis. Entretanto este fato não limita o uso destes extratos como aditivos antioxidantes, visto que os resultados de estabilidade oxidativa mostraram promissores em relação ao biodiesel de soja sem aditivo. O que levou a inferior que os primeiros eventos de perda de massa podem estar associados à presença, mesmo que minoritária, de componentes voláteis na amostra ou ainda à permanência contaminante do solvente, etanol, utilizado na preparação dos extratos.

As temperaturas de decomposição térmica de algumas substâncias com potencial antioxidante conhecido foram analisadas por Reda (2004), através de termogravimetria e calorimetria, onde o mesmo inferiu através da análise das

curvas que os antioxidantes, ácido cítrico, BHA, BHT e Eritorbato de Sódio se decompõem a temperaturas abaixo de 180 °C, tornando-os inadequados para possível uso em frituras de alimentos com óleos vegetais. Os antioxidantes: ácido fítico, propil galato, ácido ascórbico e acetato isobutirato de sacarose, começam a se decompor em temperaturas maiores que 180/200°C, sendo mais resistentes para a conservação de óleos nos processos de termo-oxidação, do que o BHA, BHT, Eritorbato de Sódio e o ácido Sórbico. É possível verificar, como evidenciado anteriormente, que extratos são mais instáveis que substâncias, devido à cinética diferenciada dos diversos compostos presentes. Vale ressaltar que o antioxidante BHT, muito referenciado como antioxidante eficaz em óleos vegetais apresentou praticamente a mesma temperatura de decomposição do extrato clorofórmico de chá verde.

5.5. AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL DE SOJA ADITIVADO POR MÉTODOS DE OXIDAÇÃO ACELERADA

O biodiesel etílico de soja utilizado neste estudo apresentou uma estabilidade à oxidação de 2,43 horas avaliados pelo método Rancimat, sendo que, pela resolução nº 42 da ANP o biodiesel comercializado no Brasil deve apresentar um PI de no mínimo 6 horas. Portanto, como a estabilidade oxidativa deste biodiesel, apresentou-se em não conformidade com as especificações, o mesmo tornou-se uma matriz lipídica adequada à avaliação da eficiência dos extratos antioxidantes, objeto de estudo neste trabalho. Os extratos foram analisados em quatro concentrações distintas 500, 1.000, 1.500 e 2.000 mg kg⁻¹, tendo como comparativo o antioxidante sintético TBHQ na concentração mais eficaz, 2.000 mg kg⁻¹.

A eficiência destes extratos naturais não pôde ser discutida em termos de substâncias isoladas, mas através de ações sinérgicas das dezenas de compostos presentes no material. Nesta perspectiva, evidenciou-se que os diversos compostos presentes, bem como suas polaridades, influenciaram de forma efetiva tanto na solubilidade destes extratos em meio lipídico, quanto na sua capacidade de doação de hidrogênios (mecanismo antioxidante) ou na inativação dos catalisadores das reações oxidativas.

Como discutido anteriormente os extratos etanólicos apresentaram uma solubilidade pouco efetiva, não sendo totalmente resolvida pelo emulsificante, o que provavelmente pode ter inibido uma atuação total destes extratos como antioxidantes, uma vez que a ordem de atividade dos mesmos não foi compatível com o que foi mensurado pelo método DPPH. Tal fato corrobora com os estudos de Dziedzic e Hudson (1984), que avaliando a atividade antioxidante de alguns ácidos fenólicos em óleos através do método Rancimat, observaram que alguns antioxidantes apesar de mostrarem efeito protetor, tiveram sua atividade antioxidante limitada devido à baixa solubilidade em meio lipídico.

Apesar da solubilidade parcial destes extratos no biodiesel na análise dos dados dos ensaios de oxidação acelerada, (PetroOxy e PDSC) foi constatado que todos os extratos mostraram-se, em todas as concentrações, efetivos na inibição dos processos oxidativos, Tabela 5.10.

Tabela 5.10 – Período de indução e tempo de indução oxidativa a altas pressões analisados pela petrooxy e pdsc, respectivamente, do biodiesel etílico de soja aditivado com os extratos vegetais.

Amostra	BSECR		BSELM		BSECV		BSHCV		BSCCV	
Conc. (mg kg ⁻¹)	PI (h)	HPOIT (min)	PI (h)	HPOIT (min)	PI (h)	HPOIT (min)	PI (h)	HPOIT (min)	PI (h)	HPOIT (min)
2000	2,52	102,1	2,00	82,8	2,94	129,6	1,56	56,5	1,92	101,5
1500	2,42	101,7	2,19	94,7	2,57	121,9	1,72	87,8	2,00	102,9
1000	1,54	74,2	2,46	96,2	2,50	90,8	1,29	87,7	1,89	98,6
500	2,07	96,2	2,61	102,0	2,32	57,7	0,99	72,5	1,86	97,7
0	0,82	25,1	0,82	25,1	0,82	25,1	0,82	25,1	0,81	25,1
CONTROLE (TBHQ 2.000 mg kg ⁻¹)										
PI (h)					HPOIT (min)					
2,42					79,9					

Analisando os extratos etanólicos do chá verde (BSECV), da casca da romã (BSECR) e das frações hexânica (BSHCV) e clorofômica (BSCCV) do chá verde verifica-se que com o aumento das concentrações dos extratos aumenta-se também o efeito de ação antioxidante no meio, provavelmente pelo

aumento da concentração dos compostos fenólicos que inibem mais eficazmente o processo oxidativo. Fora deste contexto estão as amostras com concentração de 2.000 mg kg⁻¹ das frações do chá verde que mostraram-se menos efetivas do que a amostra de 1.500 mg kg⁻¹. Assim como a amostra com concentração de 1.000 mg kg⁻¹ do extrato da romã, que apresentou-se menos efetiva que a amostra aditivada com 500 mg kg⁻¹. Este último fato é possivelmente decorrente da má solubilização desta amostra no biodiesel, levando este sistema a responder de forma não linear com o acréscimo dos compostos no meio. Como já supracitado, a solubilidade é um fator crucial para o bom desempenho do antioxidante no meio lipídico. O extrato etanólico da romã foi o que apresentou menor poder de solubilização dentre as demais amostras.

O extrato etanólico da casca do limão mostrou comportamento inverso aos demais extratos etanólicos já que com o aumento da concentração deste no biodiesel de soja verifica-se uma diminuição nos períodos de indução das amostras. Esta divergência surge da tendência do antioxidante em atuar em determinadas concentrações como pró-oxidante, ou seja, o radical formado do antioxidante desponta também na competição por hidrogênios. Assim, mesmo não promovendo ação pró-oxidante no biodiesel de soja, o aumento das concentrações do extrato no biodiesel conferiu uma ação menos efetiva do que a amostra aditivada com 500 mg kg⁻¹, menor concentração utilizada. Domingos et al. (2007) verificaram este efeito para o antioxidante sintético BHA, pois a partir de 2.000 mg kg⁻¹, o biodiesel de óleo de soja apresentou PI inferior as amostras aditivadas com menores concentrações deste antioxidante.

Comparando as técnicas de oxidação acelerada, pôde-se observar a mesma tendência antioxidante de cada extrato nas três técnicas utilizadas. Verificou-se, contudo que os PI de cada técnica e a eficiência entre os extratos são bastante distintos, devido às diferenças tanto nas variáveis impostas quanto nas etapas oxidativas que cada uma analisa.

Na PDSC as condições foram desaeradas, e as temperaturas elevadas neste estudo, no modo isotérmico, a 110 °C, sendo as amostras submetidas ainda a uma pressão de 1.400 kPa. A PDSC analisa a diferença de energia entre a amostra e um material de referência. E de acordo com estudos de Albuquerque (2010), o primeiro evento exotérmico com elevado fluxo de calor

refere-se aos primeiros estágios da autoxidação, que por sua vez têm a abstração do hidrogênio como etapa controladora da velocidade.

Assim, através desta técnica, Figura 5.12, constatou-se que os extratos analisados são eficientes na inibição das etapas iniciais da autoxidação, pois houve sempre um aumento intenso no HPOIT das amostras aditivadas em relação à amostra controle. O que remete a possíveis conclusões que estes extratos atuam principalmente como antioxidantes primários. Os quais são responsáveis pela interrupção da cadeia de reações oxidativas dos radicais livres pela contribuição de um hidrogênio provavelmente fenólico, formando radicais estáveis livres que não participam da iniciação ou propagação da oxidação lipídica. Além do fato de que dentre todas as amostras aditivadas, apenas a fração hexânica do chá verde e os extratos etanólicos do chá verde e da romã nas concentrações de 500 e 1.000 mg kg⁻¹, respectivamente, mostraram-se menos efetivos do que o antioxidante sintético TBHQ, comprovando a boa atuação destes extratos como antioxidantes.

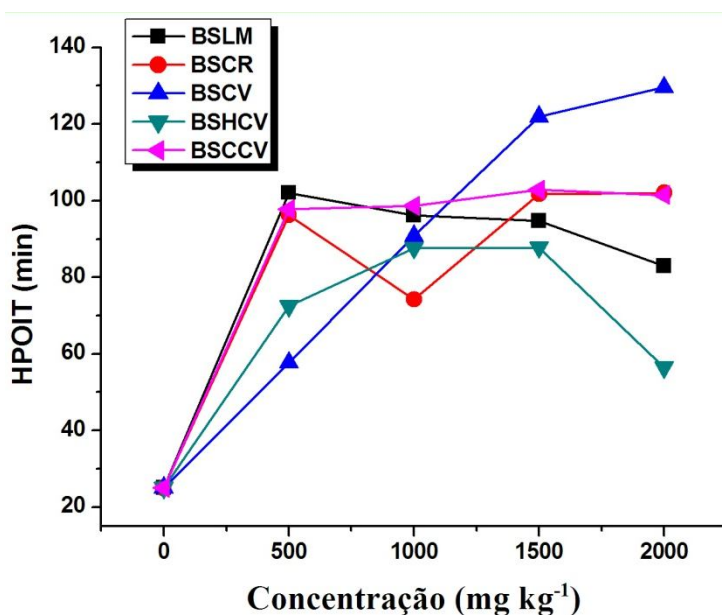


Figura 5.12 – Tempo de indução oxidativa a altas pressões (HPOIT) do biodiesel etílico de soja aditivado com diferentes concentrações de extratos vegetais.

O PetroOxy por realizar um experimento sob condições críticas de pressão apresentou a vantagem de ser bem mais rápido do que o Rancimat, mostrando resultados coerentes, em relação a atuação antioxidante com o aumento das concentrações de cada extrato, com os demais métodos aqui

estudados. Estudos como o de Araújo et al. (2009), já comprovaram o bom êxito deste método na análise do potencial antioxidante de algumas substâncias quando aplicados ao biodiesel, mostrando ainda que é possível ocorrer uma relação linear entre este método nas condições de 140°C e 700 kPa, com o método Rancimat, para algumas concentrações estudadas. Como a temperatura utilizada neste trabalho foi de 110 °C não foi verificado uma correlação direta entre este e o método Rancimat quanto à eficiência dos antioxidantes, visto que a pressão elevada juntamente com o fluxo de oxigênio atuando diretamente na amostra induz a um possível mecanismo de reação diferente do observado neste método. Mesmo apresentando atuação distinta em relação ao Rancimat, todos os extratos analisados nesta técnica mostraram ação antioxidante, aumentando consideravelmente o PI do biodiesel de soja, Figura 5.13. Além do fato de que parte dos extratos mostrou maior efeito inibitório dos processos oxidativos quando comparado com o antioxidante sintético, principalmente o extrato etanólico de chá verde.

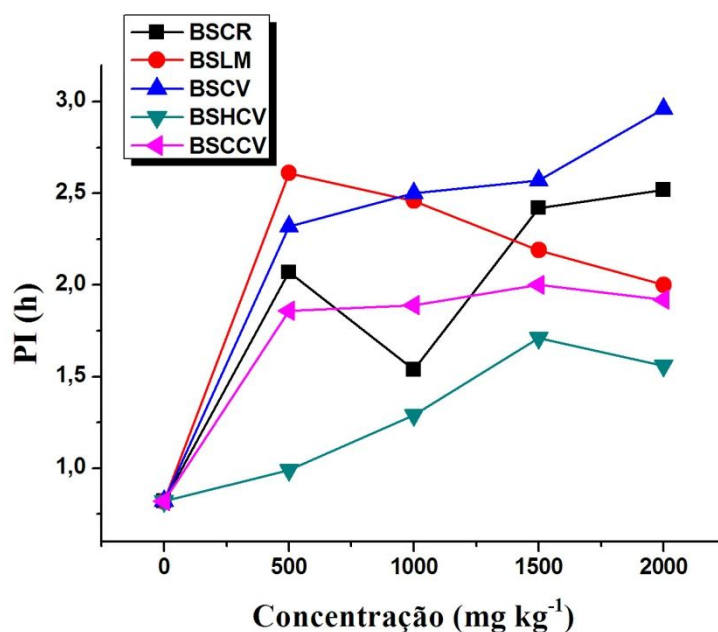


Figura 5.13 – Períodos de Indução obtidos pela técnica PetroOxy do biodiesel etílico de soja aditivado com os diferentes extratos vegetais.

O Rancimat é o método padrão de estabilidade oxidativa, norma EN 14112, que tem como parâmetros a aeração, temperatura de 110°C e apenas pressão atmosférica. Este método analisa a variação da condutividade da água deionizada pela coleta de compostos voláteis provenientes das etapas finais do processo oxidativo do biodiesel (ALBUQUERQUE, 2010). Através deste

método pôde-se inferir a real eficiência dos extratos antioxidantes na estabilidade oxidativa do biodiesel, já que esta se encontra normalizada a um valor mínimo de 6h. Foi possível observar que os PI das amostras apresentam-se muito próximos, diferindo de apenas poucos minutos ou segundos, Tabela 5.11. Além do fato das curvas serem visualmente sobrepostas a partir de algumas concentrações. Com este fato tornou necessário a realização de um estudo estatístico para verificar se as variações são significativas em um nível de 95%.

Tabela 5.11 – Períodos de indução do biodiesel etílico de soja aditivado com os extratos vegetais obtidos através do Rancimat.

PERÍODO DE INDUÇÃO (h)					
Amostra	BSECR	BSELM	BSECV	BSHCV	BSCCV
Concentração (mg kg ⁻¹)					
2.000	5,52±0,01 ^a	4,85±0,80 ^a	6,68±0,54 ^a	3,19±0,02 ^a	5,37±0,004 ^a
1.500	5,42±0,002 ^a	5,16±0,39 ^a	5,91±0,16 ^{ab}	4,98±0,0002 ^b	5,64±0,004 ^a
1.000	4,90±0,27 ^a	5,30±0,21 ^a	5,56±0,34 ^{ab}	4,32±0,09 ^b	5,51±0,001 ^a
500	5,17±0,01 ^a	5,38±0,13 ^a	4,63±0,68 ^b	3,55±0,01 ^a	5,94±0,001 ^a
0	2,43±0,24 ^b	2,43±0,24 ^b	2,43±0,24 ^c	2,43±0,24 ^c	2,43±0,24 ^b

*Valores das médias das duplicatas+desvio padrão/ Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Pelo exposto verifica-se que todas as amostras aditivadas diferem estatisticamente ($p < 0,05$) da amostra controle (isento de antioxidante), mostrando o bom êxito da atuação antioxidante dos extratos analisados frente à oxidação do biodiesel de soja. Contudo, em relação às diferentes concentrações entre cada extrato (romã, limão e chá verde), verifica-se que mesmo apresentando maior estabilidade oxidativa no biodiesel, não foram evidenciadas diferenças estatísticas entre elas ($p > 0,05$), sendo necessário determinar as concentrações ideais para a obtenção de respostas concordantes. É válido ressaltar que as amostras aditivadas com a fração hexânica do chá verde nas concentrações limites de 500 e 2.000 mg kg⁻¹ não apresentaram diferença estatística, mostrando que é pouco eficaz a utilização deste extrato em altas concentrações.

A partir do gráfico comparativo das amostras dos dados do método Rancimat, Figura 5.14, verificou-se que dentre as amostras analisadas apenas

o biodiesel de soja aditivado com o extrato etanólico de chá verde na concentração de 2.000 mg kg^{-1} atingiu o valor mínimo de 6h. Os demais extratos apresentaram valores bastante próximos, de até 5,94 h, mas não atenderam a especificação. Vale ressaltar ainda a atuação eficiente da fração clorofórmica em baixas concentrações, visto que 500 mg kg^{-1} praticamente equipara-se a atuação do extrato etanólico do chá verde na concentração de 1.500 mg kg^{-1} . É necessário frisar que por este método nenhuma amostra foi mais eficaz que o antioxidante sintético TBHQ que apresentou um valor de PI de 7,85 h.

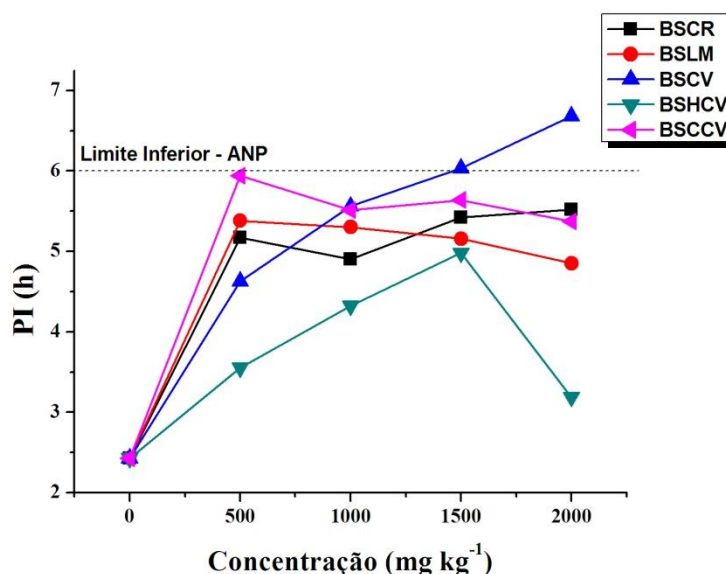


Figura 5.14 – Tendência nos períodos de indução da técnica Rancimat do biodiesel etílico de soja com a adição dos extratos antioxidantes em diferentes concentrações

Estabelecendo um comparativo entre todas as amostras com relação a sua atuação na estabilidade oxidativa do biodiesel, calculou-se um fator de estabilização, representativa do quociente entre o período da indução da amostra em questão e da amostra controle obtidos a partir do Rancimat, Tabela 5.12, onde tornou-se visível que a fração clorofórmica do chá verde apresentou em menores concentrações, elevado efeito inibidor do processo oxidativo, menor apenas do que o extrato etanólico de chá verde. É importante frisar que as frações utilizadas deste extrato apresentaram atuação inferior ao etanólico bruto, tanto em termos de atividade antioxidante (DPPH), quanto frente à inibição dos processos oxidativos. Estudos como o de Saldanha (2005), relatam que o chá verde apresenta menores quantidades de

substâncias apolares quando equiparadas com outras fontes como a erva mate. Assim a presença dos compostos mais efetivos como antioxidantes pode não estar presente nos extratos com polaridade reduzida. Esta informação corrobora com o presente estudo já que a fração hexânica foi a menos efetiva dentre todas as amostras analisadas. A atuação menos eficiente dos demais extratos em relação ao chá verde pode residir no fato que os fenólicos presentes nestes materiais não atuam de forma tão efetiva quanto às catequinas do chá verde que também apresentaram propriedades quelantes frente aos metais (SHAHIDI, 2004).

Os dados obtidos dos cálculos do fator de estabilização ainda ressaltaram que todas as amostras aqui analisadas apresentaram um efeito protetor acima do dobro da estabilidade do biodiesel de soja sem aditivos, indicando serem estes extratos promissores aditivos antioxidantes para o uso em biodiesel de soja.

Tabela 5.12 – Fator de estabilização do biodiesel etílico de soja aditivado com extratos naturais calculado pelo método Rancimat.

Antioxidante (mg kg ⁻¹)	Fator de Estabilização – F				
	EECR	EELM	EECV	EHCV	ECCV
0	1	1	1	1	1
500	2,13	2,21	1,90	1,46	2,44
1000	2,01	2,18	2,29	1,78	2,27
1500	2,23	2,12	2,43	2,05	2,32
2000	2,27	1,99	2,75	1,31	2,21

Os resultados obtidos nos métodos de oxidação acelerada não tiveram uma correlação direta com o ensaio de atividade antioxidante do método de DPPH. Instigando a conclusão que os extratos atuam de forma diferenciada em meio lipídico, possivelmente relacionado com a solubilidade dos mesmos, ou ainda podem estar atuando em etapas diferentes das reações oxidativas.

A viscosidade foi avaliada com a finalidade de verificar se a adição destes extratos, bem como a utilização de emulsificante alteraria este parâmetro que é normativo para o biodiesel de acordo com as especificações da ANP. O que foi constatado é que praticamente não houve diferença entre os

sistemas estudados, Tabela 5.13, já que as concentrações dos extratos e emulsificante são muito pequenas quando comparados com corpo mássico do biodiesel.

Tabela 5.13 – Comparativo da viscosidade do biodiesel etílico de soja puro e aditivado com os extratos antioxidantes na concentração de 2.000 mg kg⁻¹.

AMOSTRA	PARÂMETRO
	Viscosidade (mm ² s ⁻¹)
BS100	4,7
BSECV2000	4,8
BSELM2000	4,8
BSECR2000	4,7
BSHCV2000	4,8
BSCCV2000	4,6

**C
A
P
Í
T
U
L
O

6**

CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

As análises realizadas para o biodiesel de quiabo mostraram que o mesmo atende quanto aos parâmetros analisados as normas estabelecidas pela ANP para comercialização e uso do biodiesel na qualidade de biocombustível, sem que seja necessária a adição de aditivos corretores da estabilidade oxidativa e das propriedades de fluxo. Estes dados qualificam o óleo de quiabo como uma fonte alternativa para a produção de biodiesel, visto que em todos os métodos avaliados o quiabo apresentou respostas satisfatórias, com melhores propriedades que o de oleaginosas convencionais, a exemplo da soja.

Com relação a utilização do biodiesel na composição de blendas com o biodiesel de soja, a composição formada por até 50% de biodiesel de quiabo no biodiesel de soja confere à mistura propriedades combustíveis dentro dos parâmetros aceitáveis para o biocombustível, exceto no que diz respeito à estabilidade oxidativa, cujo valor do período de indução ficou abaixo do estabelecido na norma EN 14112, sendo necessário o uso de um aditivo antioxidante para a sua correção.

Os extratos etanólicos de chá verde, limão e romã mostraram-se como fontes potenciais para a pesquisa de aditivos antioxidantes para uso em biodiesel, pois todos responderam de forma satisfatória aos experimentos realizados em três técnicas aceleradas de determinação da estabilidade oxidativa, de fundamentação distinta. O biodiesel etílico de soja quando adicionado do extrato etanólico de chá verde na concentração de 2.000 mg kg^{-1} atingiu um período de indução de 6,68 h no Rancimat, adequando este biodiesel as especificações da ANP, com um baixo valor agregado. Como não houve uma investigação mais exaustiva da constituição química destes extratos, exceto os dados da literatura, faz-se necessário e indispensável um maior aprofundamento dos mesmos através de técnicas cromatográficas e espectroscópicas, sendo esta uma sugestão para trabalhos futuros.

**C
A
P
Í
T
U
L
O
7**

REFERÊNCIAS

7 REFERÊNCIAS

- ABIOVE. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE ÓLEOS VEGETAIS. Disponível em: <http://www.abiove.com.br>. Acesso em: 11 abr. 2010.
- ADELAKE, O.E.; OYELADE, O.I.; ADE-OMOWAYE, B.I.O.; ADEYEMI, I.A.; VAN DE VENTER, M. Chemical composition and the antioxidative properties of Nigerian Okra Seed (*Abelmoschus esculentus* Moench) Flour. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 1123-1126, 2009.
- AGROJURIS. Cultura do quiabo. Disponível em <<http://www.agrojuris.eng.br/minicurso/culturadoquiabo/1.01culturaquiabo.htm>>. Acesso em dez. de 2011.
- ALBUQUERQUE, A. R. Autoxidação de Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos: Estudo Teórico-Experimental. João Pessoa - PB. Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal da Paraíba, UFPB. Dissertação de mestrado, 2010.
- AMAROWICZ, R.; PEGG, R. B.; RAHIMI-MOGHADDAM, P.; BARL, B.; WEIL, J. A. Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*. 84: 551-562, 2004.
- ANDRAS, C. D.; SIMANDI, B.; ORSI, F.; LAMBROU, C.; TATA, D. M.; PANAYIOTOU, C. Supercritical carbon dioxide extraction of okra (*Hibiscus esculentus* L.) seeds. *J. Sci. Food Agric*. 85: 1415–1419, 2005.
- ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. *B.CEPPA*, Curitiba. 24,(2): 319-336, 2006.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.
- ANP (2011) - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, Disponível em: <http://www.anp.gov.br>, Acessado em fevereiro de 2011.
- ANTONIASSI, R., Métodos de avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos (CEPPA)*, 19: 353-380, 2001.
- ANWAR, F.; RASHID, U.; ASHRAF, M.; NADEEM, M. Okra (*Hibiscus esculentus*) seed oil for biodiesel production. *Applied Energy* 87: 779 – 785, 2010.
- ANWAR, F.; RASHID, U.; MAHMOOD, Z.; IQBAL, T.; SHERAZI, T. H. Inter-varietal variation in the composition of okra (*hibiscus esculentus* L.) seed oil. *Pak. J. Bot.*, 43(1): 271-280, 2011.
- ARAPITSAS, P. Identification and quantification of polyphenolic compounds from okra seeds and skins. *Food Chemistry*. 110: 1041–1045, 2008.

- ARAÚJO, J.M.A. Química de Alimentos: teoria e prática. 3. Ed. Viçosa: UFV. 478 p, 2004.
- ARAÚJO, S. V.; LUNA, F. M. T.; ROLA JR., E. M.; AZEVEDO, D. C. S.; CAVALCANTE JR, C. L. A rapid method for evaluation of the oxidation stability of castor oil FAME: influence of antioxidant type and concentration. *Fuel Processing Technology*. 90: 1272–1277, 2009.
- ARAÚJO, S. V.; LUNA, F. M. T.; ROLA JR., E. M.; AZEVEDO, D. C. S.; CAVALCANTE JR, C. L. FTIR assessment of the oxidation process of castor oil FAME submitted to PetroOXY and Rancimat methods. *Fuel Processing Technology*. 92 1152–1155, 2011.
- ARTIK, N.; MURAKAMI, H.; MORI, T. Determination of phenolic compounds in pomegranate juice by using HPLC. *Fruits Process*. 12: 492-499, 1999.
- AVIRAN, M.; DORNFELD, L.; ROSENBLAT, M.; VOLKOVA, N.; KAPLAN, M.; COLEMAN, R.; HAYEK, T.; PRESSER, D.; FUHRMAN, B. Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E – deficient mice. *J. Am. Clin. Nutr.* 71: 1062-1076, 2000.
- BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. Química do processamento de alimentos. São Paulo, Livraria Varela. 143 p, 2001.
- BRACESCO, N.; DELL, M.; ROCHA, A.; BEHTASH, S. Antioxidant activity of a botanical extract preparation of *Illex paraguariensis*: Prevention of DNA double-strand breaks. *J. Altern Complem.* 9: 379-378, 2003.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science&Technology*. 28(1): 25-30, 1995.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB. Safras Séries. Históricas. Brasília, 2010.
- CABRAL, I. S. R.; OLDONI, T. L. C.; PRADO, A.; BEZERRA, R. M. N.; ALENCAR, S. M.; IKEGAKI, M.; ROSALEN, P. L. Composição Fenólica, Atividade Antibacteriana e Antioxidante da Própolis Vermelha Brasileira. *Quim. Nova*, 32, (6): 1523-1527, 2009.
- CALISIR, S.; OZCAN, M.; HACISEFEROGULLARI, H.; YIDIZ, M.U. A study on some physico-chemical properties of Turkey okra (*Hibiscus esculentus*, L.) seeds. *Journal of Food Engineering*. 68: 73–78, 2005.
- CAMCIUC, M.; DEPLAGNE, M.; VILAREM, G.; GASET, A. Okra – *Abelmoschus Esculentus* L. (Moench) a crop with economic potential for set aside acreage in France. *Industrial Crops and Products*, 7: 257-264, 1998.

- CANDEIA, R. A. *Biodiesel de Soja: Síntese, Degradação e Misturas Binárias*. João Pessoa - PB. Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Paraíba, UFPB. Tese de Doutorado, 2008.
- CANDEIA, R.A.; SILVA, M.C.D.; CARVALHO, J. R. FILHO.; BRASILINO, M.G.A.; BICUDO, T.C.; SANTOS, I.M.G.; SOUZA, A.G., Influence of soybean biodiesel content on basic properties of biodiesel–diesel blends. *Fuel*. 88: 738, 2009.
- CARDOSO, J. J. F.; COSTA, A. A.; ALMEIDA, M. A. P.; MELO, C. K. E CARDIAS, H. T. C. Caracterização do biodiesel metílico produzido a partir de óleo de babaçu e suas misturas com o diesel de petróleo. Disponível em: <www.biodiesel.gov.br/docs/congressso2006/Caracterizacao/CaracterizacaoBiodiesel15>. Acesso em: 23/Mar/2011.
- CARISTI, C.; BELLOCCO, E.; PANZERA, V.; TOSCANO, G.; VADALA, R.; LEUZZI, U. Flavonoids Detection by HPLC-DAD-MS-MS in Lemon Juices from Sicilian Cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 51: 3528-3534, 2003.
- CARPES, S. T.; PRADO, A.; MORENO, I. A. M.; MOURÃO, G. B.; ALENCAR, S. M. Avaliação do potencial antioxidante do pólen apícola produzido na Região Sul do Brasil. *Quim. Nova*, Vol. 31, No. 7, 1660-1664, 2008.
- CHIPAULT, J.R. et al. The antioxidant properties of natural spices. *Food Research*. 17: 46-55, 1952.
- CHOE, E.; MIN, D.B. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive. Reviews in Food Science and Food Safety*. 5: 169-186, 2006.
- COSGROVE, J. P. et al. The kinetics of autoxidation of polyunsaturated fatty acids. *Lipids*, Heidelberg, 22 (5): 299-304, 1987.
- COSTA, M.C.B; OLIVEIRA, G.D.; HAAG, H.P. Nutrição mineral de hortaliças – Efeito da omissão dos macronutrientes e do boro, no desenvolvimento e na composição química de hortaliças. In: HAAG, H. P.; MINAMI, K.; Nutrição mineral em hortaliças. Campinas: Fundação Cargill, 1981, cap. 6, p.257-276.
- DABDOUB, M. J. Síntese do pré-projeto de criação da rede paulista de biodiesel. USP, Ribeirão Preto – SP, 2003.
- DABDOUB, M. J.; BRONZEL, J. L. Biodiesel: visão crítica do status atual e perspectivas na academia e na indústria. *Química Nova*. 32, 3: 776-792, 2009.
- DAHIYA, A.K., VASUDEVAN, P. Farm biomass utilization alternatives. *Biol Wastes* 21: 85–91, 1987.
- DANTAS, M.B., *Blendas de Biodiesel: Propriedades de Fluxo, Estabilidade Térmica e Oxidativa e Monitoramento Durante Armazenamento*. João Pessoa, Programa de Pós-Graduação em Química, UFPB, Tese de Doutorado, 2010.

- DANTAS, M.B.; ALBUQUERQUE, A. R.; BARROS, A.K.; RODRIGUES FILHO, M.G.; ANTONIOSI FILHO, N.R.; SINFRÔNIO, F.S.M.; ROSENHAIM, R.; SOLEDADE, L.E.B.; SANTOS, I.M.G.; SOUZA, A.G. Evaluation of the oxidative stability of corn biodiesel. *Fuel*. 90: 773-778, 2011.
- DECKER, E. A. Strategies for manipulating the prooxidative/antioxidative balance of food to maximize oxidative stability. *Trends Food Sci. Technol.* 9 (6): 241-248, 1998.
- DEL RÍO, J.A.; FUSTER, M.D.; GÓMEZ, P.; PORRAS, I.; GARCÍA-LIDÓN, A.; ORTUNO, V. Citrus limon: a source of flavonoids of pharmaceutical interest. *Food Chemistry*. 84: 457-461, (2004).
- DIMITRIOS, B. Sources of natural phenolics antioxidants. *Trends in Food Science & Technology*. 17, (9): 505-512, 2006.
- DOMINGOS, A.K.; SAAD, E. B.; VECHIATTO, W. W. D.; WILHELM, H. M. ; RAMOS, L. P. The Influence of BHA, BHT and TBHQ on the Oxidation Stability of Soybean Oil Ethyl Esters (Biodiesel). *J. Braz. Chem. Soc.* 18, (2): 416-423, 2007.
- DUNN, R. O. Oxidative Stability of Biodiesel by Dynamic Mode Pressurized-Differential Scanning Calorimetry (PDSC). *Am. Soc. of Agric. and Biol. Eng.*, 49(5): 1633-1641, 2006.
- DUNN, R. O. SHOICKLEY, M. W.; BAGBY M. O., Improving the Low-Temperature Properties of Alternative Diesel Fuels: Vegetable Oil-Derived Methyl Esters, *JAOCS*, 73:1719, 1996.
- DURÁN, R.M.; PADILLA, B. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. *Grasas y Aceites*, Sevilla, v.44, n.2, p.101-106, 1993.
- DZIEDZIC, S.Z.; HUDSON, B. J. F. Phenolic acids and related compounds as antioxidants for edible oils. *Food Chemistry*. 14:45-51, 1984.
- ECONOMOS, C.; CLAY, W. D. Nutritional and health benefits of citrus fruits. *Food, Nutrition and Agriculture*. 24, (1): 8-11, 1999.
- ESTRELLA, G. M.; NIOKHOR, D. P.; STEVANOVIC, T. Comparative study of antioxidant capacity of yellow birch twigs extracts at ambient and high temperatures. *Food Chemistry* 107: 344-351, 2008.
- FARHOOSH, R.; GOLMOVAHHED, G. A.; KHODAPARAST, M. H.H. Antioxidant activity of various extracts of old tea leaves and black tea wastes (*Camellia sinensis* L.). *Food Chemistry* 100: 231-236, 2007.
- FERRARI, R. A.; SOUZA, W. L. Avaliação da estabilidade oxidativa de biodiesel de óleo de girassol com antioxidantes. *Química Nova*. 32, (1): 106-111, 2009.

- FERREIRA, I.C.F.R.; AIRES, E.; BARREIRA, J; C.M; ESTEVINHO,L.M. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chemistry*. 114: 1438–1443, 2009.
- FILGUEIRA, F. A. R. Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças – Viçosa: UFV, cap.24, p.337-382, 2000.
- FREIRE, L. M. S., Otimização da síntese etanólica do biodiesel de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) e determinação de seus parâmetros fluidodinâmicos. Programa de Pós-Graduação em Química, UFPB, Dissertação de Mestrado, 2009.
- FREITAS, S. M. de. Biodiesel à base de óleo de soja é a melhor alternativa para o Brasil? *Informações Econômicas*, SP, 34(1):86-89, Jan. 2004.
- GARCIA, C. C.; COSTA, B. J.; VECHIATTO, W.W. D. Influência da concentração do biodiesel metílico de palma no comportamento de misturas biodiesel/diesel, Goiânia, I Congresso Brasileiro da Rede de Biodiesel, 2006.
- GORDON, M. H. The development of oxidative rancidity in foods. In: POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M. *Antioxidants in food*. England: Woodhead publishing, 2001.
- GUNSTONE F.D.; HARWOOD, J.L. Occurrence and characterization of oils and fats. In: GUNSTONE F.D.; HARWOOD, J.L.; DIJKSTRA. A.J. (eds) *The lipid handbook*, 3ªed. CRC Press, Boca Raton, p. 37–142, 2007.
- GUNSTONE, F.D., Oxidation through reaction with oxygen, in *The Chemistry of Fats and Oils* by Gunstone, F.D., Blackwell Publishing, CRC Press, Oxford UK, 150–168, 2004.
- HALLIWELL, B. et al. The characterization of antioxidants. *Food Chem. Toxicol.*, v. 33, n. 7, p. 601-617, 1995.
- HE, L.; XU, H.; LIU, X.; HE, W.; YUAN, F.; HOU, Z.; GAO, Y. Identification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) seed residues and investigation into their antioxidant capacities by HPLC–ABTS⁺ assay. *Food Research International*. 10.1016: 1-7, 2010.
- HOLSER, R.A.; BOST, G. Hybrid Hibiscus Seed Oil Compositions. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 81: 795-797, 2004.
- HUANG, Z.; WANG, B.; EAVES, D. H.; SHIKANY, J. M.; PACE, R. D. Phenolic compound profile of selected vegetables frequently consumed by African Americans in the southeast United States. *Food Chemistry*. 103:1395–1402, 2007.
- JAIN, S.; SHARMA, M. P. Stability of biodiesel and its blends: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 14: 667-678, 2010.

JARRET, R. L.; WANG, M. L.; LEVY, I. J. Seed Oil and Fatty Acid Content in Okra (*Abelmoschus esculentus*) and Related Species. *J. Agric. Food Chem.* 59: 4019–4024, 2011.

KARAKOLTSIDIS, P. A., & CONSTANTINIDES, S. M.). Okra seeds: A new protein source. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 23(6), 1204–1207, 1975.

KNOTHE, G. Some aspects of biodiesel oxidative stability. *Fuel Processing Technology*, 88: 669-677, 2007.

KNOTHE, G.; GERPEN, J. V.; KRAHL, J.; RAMOS, L. P. Manual do Biodiesel. Traduzido do original “The Biodiesel Handbook” por Luiz Pereira Ramos. Editora Edgard Blucher, São Paulo – SP, 2006.

KODALI, R. D., Oxidative Stability Measurement of Hight-Stability Oils by Pressure Diferential Scaning Calorimeter (PDSC). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 7649-7653, 2005.

KOLAKOWSKA, A. Lipid Oxidation in Food Systems. In: SIKORSKI, Z.E.; KOLAKOWSKA, A. Chemical and Functional Properties of Food Lipids. Boca Raton: CRC PRESS, 2003.

KULISIC, T., DRAGOVIC-UZELAC, V., & MILOS, M. Antioxidant activity ofaqueous tea infusions prepared from oregano, thyme and wild thyme. *Food Technology and Biotechnology*, 44, 485–492, 2006.

KULJARACHANAN, T.; DEVAHASTIN, S.; CHIEWCHAN, N.; *Food Chem.* 113, 944, 2009.

KUSKOSKI, E. M. et al. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Rev. Bras. Ciênc. Tecnol. Alim.* 25:726-732, 2005.

KWIECIEN, J.; HÁJEK, M.; SKOPAL, F. The effect of the acidity of rapeseed oil on its transesterification. *Bioresource Technology* 100: 5555–5559, 2009.

LAGUERRE, M.; LECOMTE, J.; VILLENEUVE, P. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Progress in Lipid Research*. 46: 244–282, 2007.

LI, Y., GUO, C., YANG, J., WEI, J., XU, J., & CHENG, S. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry*. 96: 254–260, 2006.

LIANG, Y. C.; MAY, C. Y.; FOON, C. S.; NGAN, M. A.; HOCK, C. C.; BASIRON, Y. The effect of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of palm diesel. *Fuel*. 85: 867–870, 2006.

- LIMA VLAG, MELO EA, LIMA DESL. Nota prévia: Teor de compostos fenólicos totais em chás brasileiros. *Braz J Food Technol* 7: 187-190 2004.
- LÔBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C.; CRUZ, R. S. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. *Química Nova*, 32(6): 1596-1608, 2009.
- LUNDBERG, W.O. Mechanisms. In: SCHULTZ, H.W.; DAY, E.A.; SINNHUBER, R.O. Lipids and their oxidation – Symposium on foods. Connecticut: AVI. 442p , 1962.
- LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Potencial antioxidante de extratos de sementes de limão (*Citrus limon*). *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 30(2): 489-493, 2010.
- MACHADO, T. B.; LEAL, I. C. R.; AMARAL, A. C. F.; SANTOS, K. R. N.; SILVA, M. G.; KUSTER, R. M. Antimicrobial ellagitannin of Punica Granatum fruits. *J. Braz. Chem. Soc.* 13: 606-610, 2002.
- MAIA, E. L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Avaliação de um método simples e econômico para a metilação de ácidos graxos com lipídios de diversas espécies de peixes. *Revista do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo*, v. 53, n. 1/2, p. 27-35, 1993.
- MASUCHI, M. H.; CELEGHINI, R. M. S.; GONÇALVES, L. A. G.; GRIMALDI, R. QUANTIFICAÇÃO DE TBHQ (TERC BUTIL HIDROQUINONA) E AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA EM ÓLEOS DE GIRASSOL COMERCIAIS. *Quim. Nova*, 31,(5): 1053-1057, 2008.
- MENEGHETTI, S. M. P.; MENEGHETTI, M. R.; SERRA, T. M.; BARBOSA, D. C.; WOLF, C. R. Biodiesel Production from Vegetable Oil Mixtures: Cottonseed, Soybean and Castor Oils. *Energy & Fuels.* 21: 3746–3747, 2007.
- MILIAUSKAS, G.; VENSKUTONIS, P. R.; VAN BEEK, T. A. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chem.* 85: p. 231-237, 2004.
- MORAIS, S. M.; CAVALCANTI, E. S. B.; COSTA, S. M. O.; AGUIAR, L. A. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* .19: 315-320, 2009.
- MOREIRA, A. V. B.; MANCINI FILHO, J. Efeito dos compostos fenólicos de especiarias sobre lípidos polinsaturados. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 39, n. 3, p. 130-133, 2003.
- MORETTO, E.; FETT, R. Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos. São Paulo: Livraria Varela, 1998.
- MOTA, W.F.; FINGER, F.L.; CASALI, V.W.D. Olericultura: Melhoramento Genético do Quiabeiro. Viçosa:UFV, Departamento de Fitotecnia, p. 144, 2000.

- MOURE, A.; CRUZ, J.M.; FRANCO, D.; DOMÍNGUEZ, J.M.; SINEIRO, J.; DOMÍNGUEZ, H.; NÚÑEZ, M.J.; PARAJO, J.C. Natural antioxidants form residual sources. *Food Chemistry*. 72: 145-171, 2001.
- NAWAR, W.W. Biochemical processes: lipid instability. In: TAUB, I.A.; SINGH, R.P. *Food Storage Stability*. Washington: CRC Press. 539p, 1998.
- NAWAR, W.W. Lipids. In: FENNEMA, O.R. *Food Chemistry*. 3 ed. New York: Marcel Dekker. 1069p, 1996.
- NISHIYAMA, M. F.; COSTA, M. A. F.; COSTA, A. M.; SOUZA, C. G. M.; BÔER, C. G.; BRACHT, C. K. PERALTA, R. M. Chá verde brasileiro (*Camellia sinensis* var *assamica*): efeitos do tempo de infusão, acondicionamento da erva e forma de preparo sobre a eficiência de extração dos bioativos e sobre a estabilidade da bebida. *Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas*, 30: 191-196, 2010.
- NUNES, X. P.; *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 2008, 18, 718-723.
- O'BRIEN, R. D. *Fats and Oils: Formulating and processing for applications*. Lancaster: Technomic Publishing. p. 204-211, 1998.
- OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. *Quim. Nov.*, 32, (3), 689-702, 2009.
- PARENTE, E. J. S. *Biodiesel: Uma Aventura Tecnológica num País Engraçado*.
- PICCIN, E. Determinação de polifenóis totais utilizando sistemas de análise por injeção em fluxo. São Carlos – SP. Universidade Federal de São Carlos. Dissertação de Mestrado, 2004.
- PIETTA, P.G.; Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*. 63, (7): 1035-1042, 2000.
- PINTO, A. C.; GUARIEIRO, L. L. N.; REZENDE, M. J. C.; RIBEIRO, N. M.; TORRES, E. A.; LOPES, W. A.; PEREIRA, P. A. P.; DE ANDRADE, J. B. "Biodiesel: an overview". *Journal of the Brazilian Chemical Society*, (6B): 1313-1330, 2005.
- PORTER, N. A.; CALDWELL, S. E.; MILLS, K. A. Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. *Lipids*, North Carolina. 30: 4: 277-290, 1995.
- POUSA, G. P. A. G.; SANTOS A.L. F; SUAREZ P. A. Z. History and policy of biodiesel in Brazil, *Energy Policy*, 2007.
- POYRAZOGLU, E.; GOKMEN, V.; ARTIK, N. Organic acids and phenolic compounds in pomegranates (*Punica Granatum*, L.) grown in Turkey. *J. Food Comp. and Anal.* 15: 567-575, 2002.

- RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Química Nova*, 29 (4): 755-760, 2006.
- RAMOS, M. J.; FERNÁNDEZ, C. M.; CASAS, A.; RODRÍGUEZ, L.; PÉREZ, A. Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties. *Bioresource Technology*. 100: 261-268, 2009.
- RASHID UMER, ANWAR FAROOQ, KNOTHE GERHARD. Evaluation of biodiesel obtained from cottonseed oil. *Fuel Processing Technology*. 2009.
- RIBANI, R. H. Compostos fenólicos em erva-mate e frutas. Campinas – SP. Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP. Tese de Doutorado, 2006.
- RICCI, D.; GIAMPERI, L.; BUCCHINI, A.; FRATERNALE, D. Antioxidant activity of Punica granatum fruits. *Fitoterapia* 77: 310–312, 2006.
- RINALDI, R.; GARCIA, C.; MARCINIUK, A. V. R.; SCHUCHARDT, U. *Quim. Nova*, 30: 1364, 2007.
- RODRIGUES FILHO, M.G. Cardanol e Eugenol Modificados – Uso como Antioxidantes no Controle do Processo Oxidativo do Biodiesel Etilico de Algodão. João Pessoa - PB. Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Paraíba, UFPB. Tese de Doutorado, 2010.
- RODRIGUES J. A. E CARDOSO F. P. Correlating Chemical Structure and Physical Properties of Vegetable Oil Esters. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 83: 353, 2006.
- ROSENHAIM, R. “Avaliação das Propriedades Fluído-Dinâmicas e Estudo Cinético por Calorimetria Exploratória Diferencial Pressurizada (PDSC) do Biodiesel Derivado de Óleo de Fritura Usado”. João Pessoa - PB. Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal da Paraíba, UFPB. Tese de Doutorado, 2009.
- ROSS, R. G.; SELVASUBRAMANIAN, S.; JAYASUNDAR, S. Immunomodulatory activity of Punica Granatum in rabbits – a preliminary study. *J. ethnopharmacol.* 78: 85-87, 2001.
- RYAN K. G.; SWINNY, E.E.; MARKHAM, K. R.; WINEFIELD, C. Flavonoid gene expression and UV protection in transgenic and mutant *Petunia* leaves. *Phytochemistry*. 59: 23-32, 2002.
- SABU, M.C., SMITHA, K., KUTTAN, R. Anti-diabetic activity of green tea polyphenols and their role in reducing oxidative stress in experimental diabetes. *J. Ethnopharmacol.* 83: 109-116, 2002.
- SAKA, S.; KUSDIANA, D.; Biodiesel fuel from rapeseed oil as prepared in supercritical methanol. *Fuel*, 80: 225-231, 2001.

- SCHMITZ, W.; SAITO, A. Y.; ESTEVÃO, D.; SARIDAKIS, H. O. O chá verde e suas ações como quimioprotetor. *Semin. Cienc. Biol. Saúde*. 26: 119-130, 2005.
- SCHUBERT, S. Y.; LANSKY, E. P.; NEEMAN, I. Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. *Journal of Ethnopharmacol.* 66: 11-17, 1999.
- SHAHIDI, F. Bailey's industrial oil & fats products. *Edible oil and fat products: chemistry, properties, and health effects*. Vol. 16^a. 2004.
- SHAHIDI, F. Bailey's industrial oil & fats products. *Edible oil and fat products: chemistry, properties, and health effects*. 6^a. 2004.
- SCHNEIDER, C; PORTER, N. A.; BRASH, A. R. Routes to 4-hydroxynonenal: fundamental issues in the mechanisms of lipid peroxidation. *J Biol Chem*; 283:155, 39-43, 2008.
- SHU, Q.; YANG, B.; YANG, J.; QING, S. Predicting the viscosity of biodiesel fuels based on the mixture topological index method. *Fuel*. 86: 1849-1854, 2007.
- SHUI, G., PENG, L.L. An improved method for the analysis of major antioxidants of *Hibiscus esculentus* Linn. *Journal of Chromatography*, 1048: 17–24, 2004.
- SILVA, C.X.; ÁLVARES, D.R.S.; LUCAS, E.F. New additives for the pour point reduction of petroleum middle distillates. *Energy & Fuels*.18: 599-604, 2004.
- SILVA, F.A.M., BORGES, M.F.M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. *Química Nova*. 22 (1): 94-103, 1999.
- SINGH, R. P., CHIDAMBARA MURTHY, K. N., & JAYAPRAKASHA, G. K. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 81–86, 2002.
- SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Revista de Nutrição*, v. 15, n. 1, p. 71- 81, 2002.
- SOUSA, C. M. M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quim. Nova*, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.
- STAVARACHE, C.; VINATORU, M.; MAEDA, Y. Aspects of ultrasonically assisted transesterification of various vegetable oil with methanol. *Ultrasonics Sonochemistry*. 10:106, 2006.
- TATER, R. E.; WATTS, K. C.; ALLEN, C. A. W.; WILKIE, K. I. The viscosities of three biodiesel fuels at temperatures up to 300 °C. *Fuel*. 85: 1010-1015, 2006.

- TOIT, R.; VOLSTEEDT, Y.; APOSTOLIDES, Z. Comparison of the antioxidant content of fruits, vegetables and teas measured as vitamin C equivalents. *Toxicology*. 166: 63-9, 2001.
- TURATTI, J. M. LIPÍDIOS : aspectos funcionais e novas tendências. Campinas: ITAL. 78 p, 2002.
- VAN GERPEN, J. H. Biodiesel processing and production. *Fuel Processing Technology*, 86: 1097-1107, 2005.
- VASCONCELOS, A. F. F. Conformidade de Misturas de Biodiesel Etílico quanto aos Parâmetros Reológicos, Fluidodinâmicos, Oxidativos e Carburantes. João Pessoa - PB. Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Paraíba, UFPB. Tese de Doutorado, 2009.
- VELASCO, J.; ANDERSEN, M. L.; SKIBSTED, L. H. Evaluation of oxidative stability of vegetable oils by monitoring the tendency to radical formation. A comparison of electron spin resonance spectroscopy with the Rancimat method and differential scanning calorimetry. *Food Chemistry*, 85: 623-632, 2004.
- VIUDA-MARTOS, M.; RUIZ-NAVAJAS, Y.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. Antioxidant properties of pomegranate (*Punica granatum* L.) bagasses obtained as co-product in the juice extraction. *Food Research International* 44:1217–1223, 2011.
- WANASUNDARA, U. N.; SHAHIDI, F. Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extracts in marine oils. *Food Chemistry*. 63, (3): 335-342, 1998.
- WATT, G. *The Commercial Products of India*, p. 381, 1908.
- WAYNICK, J.A. Characterization of Biodiesel Oxidation and Oxidation Products. 2005. Disponível em <http://www.nrel.gov/vehiclesandfuels/npb/pdf/39096.pdf>, consulta em dezembro/2010.
- WU, X.; BEECHER, G.R.; HOLDEN, J.M.; HAYTOWTTZ, D.B.; GEBHARDT, S.E.; PRIOR, R.L. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *J. Agric. Food Chem.* Washington, 52, 12:4026-4037, 2004.