



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

ISADORA GUILHERME BRANCO

**EFEITOS DE ÍONS Cr^{3+} , Mn^{2+} E Co^{2+} E ANTIOXIDANTES
NATURAIS NA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL**

Londrina
2025

ISADORA GUILHERME BRANCO

**EFEITOS DE ÍONS Cr^{3+} , Mn^{2+} E Co^{2+} E ANTIOXIDANTES
NATURAIS NA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL**

Tese apresentada ao Departamento de Química da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção de título para Doutora em Química.

Orientador: Prof. Dr. Dionísio Borsato.

Londrina
2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Branco, Isadora Guilherme .

EFEITOS DE ÍONS Cr³⁺, Mn²⁺ E Co²⁺ E ANTIOXIDANTES NATURAIS NA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL. / Isadora Guilherme Branco. - Londrina, 2025.
100 f. : il.

Orientador: Dionísio Borsato.
Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2025.
Inclui bibliografia.

1. Biodiesel - Tese. 2. Extrato etanólico natural - Tese. 3. Período de indução - Tese. 4. Taxa de reação de oxidação - Tese. I. Borsato, Dionísio . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDU 54

ISADORA GUILHERME BRANCO

**EFEITOS DE ÍONS Cr^{3+} , Mn^{2+} E Co^{2+} E ANTIOXIDANTES
NATURAIS NA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL.**

Tese apresentada ao Departamento de
Química da Universidade Estadual de
Londrina, como requisito parcial à obtenção
de título para Doutora em Química.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Dionísio Borsato
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Henrique de Santana
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a. Dr^a. Karina Angilelli
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Evandro Bona
Universidade Tecnológica Federal do Paraná –
UTFPR/Campo Mourão

Prof. Dr. Diego Galvan
Universidade Federal de Santa Catarina –
UFSC

Londrina, 11 de agosto de 2025.

AGRADECIMENTOS

As palavras que aqui deixo são como pequenas sementes lançadas ao vento: talvez não alcancem todos os corações que caminharam comigo, mas cada uma carrega em si a gratidão genuína por ter feito parte dessa travessia. Esta fase da minha vida foi uma longa travessia por mares ora calmos, ora revoltos e não haveria como atravessá-la sem aqueles que me ajudaram a manter o leme firme quando as ondas pareciam querer virar o barco. Se alguém não for citado nominalmente, peço perdão, mas saibam: cada um foi farol em meio à névoa, trilha em terreno incerto e parte vital dessa jornada que tracei ao longo dos últimos anos.

Como não poderia ser diferente, começo por quem construiu os alicerces da minha coragem: meus pais, Ciro Cesar Zanini Branco e Ivanise Guilherme Branco. Eles foram minhas âncoras e minhas asas, sendo firmes na base, leves no incentivo. Dividiram comigo o peso e a leveza dessa jornada sendo, por vezes, abrigo e ponte. Em cada gesto, carregaram comigo as pedras do caminho e me lembraram que seria capaz de transformá-las em degraus, mas que precisaria renunciar alguns afazeres, e assim foi.

À minha irmã, Maria Júlia Guilherme Branco, que sempre foi uma rede de segurança invisível: discreta, mas sempre ali, amparando minhas quedas e celebrando minhas vitórias, mesmo nas entrelinhas da rotina.

Aos meus avôs, Walter Vicente Branco (*in memoriam*) e Evan Guilherme (*in memoriam*), que agora habitam outras dimensões e, mesmo distantes aos olhos, continuam próximos ao coração. A ausência física nunca impediu sua presença espiritual, pois sei que sopraram ventos de coragem nas minhas velas quando eu mais precisei avançar. Espero que haja comemorações e orgulho no céu por esta etapa que está sendo findada.

Às minhas avós, Maria José Zanini Branco e Lurdes Nair Rizzo Guilherme, verdadeiras guardiãs da fé, que, com suas orações e gestos de ternura, foram como bússolas apontando sempre para o norte da esperança. As velas acesas por vocês foram luzes que iluminaram muitos dos meus momentos de angústia e escuridão.

Aos meus tios e tias, que transformaram conversas despreziosas em verdadeiros laboratórios de ideias, com seus *insights*, surgidos em meio a um prato de macarrão ou a uma ligação rápida, foram pequenas epifanias que me ajudaram a expandir horizontes e pensar além.

À Polyane Oliveira Nita, coração pulsante que manteve o movimento constante quando tudo parecia prestes a parar. Sua presença foi como aquele motor silencioso que impulsiona grandes engrenagens, talvez despercebido aos olhos de muitos, mas essencial para que tudo funcionasse. Foi mentora, conselheira e amparo. Você me ensinou, com firmeza doce e olhar generoso, que liderar é também acolher, confiar e inspirar. Suas atitudes foram como mãos estendidas em travessias turbulentas, não para carregar o peso por mim, mas para me lembrar que eu podia caminhar ao seu lado. Em muitos momentos, foi ponte, em outros, escudo. Mas, sobretudo, sempre impulso. A você, minha eterna gratidão. Não apenas por fazer parte dessa jornada, mas por ser uma das razões pelas quais ela foi possível e transformadora.

À minha gestora, Sheila Pelegri de Sá, que com uma lucidez cirúrgica e palavras certeiras, me fez enxergar que, mesmo quando meus passos titubeavam, minha essência ainda residia na educação. Ela soube, como poucos, lembrar-me de onde eu vim e para onde eu precisava voltar e esse gesto, aparentemente simples, foi um resgate.

Aos meus amigos e amigas que dividiram comigo não apenas cafés e refeições, mas também inquietações, desabafos e *brainstorms* improvisados. Vocês foram como espelhos e lentes: refletindo o que eu precisava enxergar e ampliando meu campo de visão com empatia e carinho. Aqui, abro uma porta para citar algumas pessoas fundamentais que, mesmo longe da bancada, estiveram sempre próximos ao coração: Ângela Xavier, Edna Palhano, Vera Aguiar, Paula Percegon, Jacheline Fabiani e Fábio Renato. Vocês me ensinaram, com atitudes e palavras, a ser a profissional que sou. O LabIn foi mais que um laboratório: foi abrigo, casa e espaço de afeto. A chegada de vocês foi uma primavera em pleno inverno acadêmico.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Dionísio Borsato, minha mais profunda e sincera gratidão. O senhor foi mais que um orientador, foi um verdadeiro maestro desta jornada acadêmica, regendo com sabedoria, sensibilidade e generosidade cada etapa deste processo. Com paciência e precisão, o senhor compartilhou seu vasto conhecimento como quem oferece luz para iluminar e mover caminhos. Sua dedicação foi o (bio)combustível vital que me impulsionou a seguir, mesmo quando as forças vacilavam.

Aos colegas de laboratório Marco Aurélio, José, Erica, Júlia e Nathan, minha profunda gratidão pelo tempo dedicado, pelas trocas generosas e pelo apoio constante dentro do laboratório. A convivência, o companheirismo e a colaboração de

cada um foram essenciais para a conclusão deste ciclo acadêmico. Este caminho não teria sido o mesmo sem vocês.

Obrigada por cada palavra, por cada escuta atenta e, sobretudo, por acreditar no meu potencial com tamanha generosidade. Sua presença marcou não apenas a minha trajetória acadêmica, mas também minha formação pessoal e profissional.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Química, que pavimentaram essa estrada com conhecimento sólido e questionamentos instigantes. À Universidade Estadual de Londrina, meu sincero reconhecimento por me acolher e permitir crescer entre suas paredes repletas de história e saber.

E, por fim e acima de tudo, agradeço a Deus, o grande Articulador de encontros e destinos. Foi Ele quem costurou todos esses laços, plantou essas pessoas no meu caminho e regou cada momento com a força necessária para seguir adiante.

“Todos os seu sonhos podem ser alcançados se
você tiver coragem de prosseguir-los”.

(Walt Disney)

BRANCO, Isadora Guilherme. **Efeitos de íons Cr^{3+} , Mn^{2+} e Co^{2+} e antioxidantes naturais na estabilidade oxidativa do biodiesel**. 2025. 100 f. Tese (Doutorado em Química) – Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2025.

RESUMO

A busca por alternativas sustentáveis ao uso de combustíveis fósseis destaca o biodiesel, cuja estabilidade oxidativa ainda é um desafio. O uso de aditivos antioxidantes naturais se apresenta como estratégia eficaz para aumentar sua vida útil. O estudo teve como objetivo avaliar a eficiência extratos antioxidante naturais etanólicos de folhas de café (*Coffea arabica*), erva-mate (*Ilex paraguariensis*) e polpa de jambolão (*Syzygium cumini lamarck*) na estabilidade oxidativa do biodiesel, considerando a atuação dos extratos na presença e ausência dos íons metálicos de Cr^{3+} , Mn^{2+} e Co^{2+} . Os extratos naturais foram adicionados ao biodiesel e sua estabilidade oxidativa avaliada pelo período de indução (PI) e pela taxa de reação de oxidação (k) a temperatura constante de 110 °C. O planejamento experimental de mistura simplex-centroide foi realizado, aliado à otimização pelo método simplex supermodificado e à função de desejabilidade, com o objetivo de maximizar o PI e minimizar o valor de k. Os modelos matemáticos ajustados apresentaram elevados coeficientes de determinação, com R^2_{ajustado} de 0,990 para o PI e 0,960 para k e foram validados estatisticamente por análise de variância. Os resultados indicaram que todos os extratos naturais aumentaram a estabilidade do biodiesel, reduzindo o valor de k e aumentando o PI se comparado ao B100. O extrato de folhas de café destacou-se na ausência de íons metálicos, elevando o PI para 12,42 horas e reduzindo k em aproximadamente seis vezes. No entanto, a presença dos íons metálicos reduziu o PI em todas as amostras, sendo o extrato de erva-mate o mais sensível ao Mn^{2+} , com variação de 41,61% para o PI. O íon Cr^{3+} teve menor impacto, especialmente na presença do extrato de folhas de café, que apresentou variação da taxa de oxidação de 3,55%. Frente ao efeito catalítico dos metais, o extrato de polpa de jambolão mostrou maior resistência e eficácia antioxidante em comparação aos demais extratos.

Palavras-chave: período de indução; taxa de reação de oxidação, folhas de café; erva-mate; polpa de jambolão.

BRANCO, Isadora Guilherme. **Effects of Cr³⁺, Mn²⁺, and Co²⁺ Ions and Natural Antioxidants on the Oxidative Stability of Biodiesel**. 2025. 100 p. Thesis (Doutorado em Química) - Department of Chemistry, State University of Londrina, Londrina, 2025.

ABSTRACT

The search for sustainable alternatives to fossil fuel use highlights biodiesel, whose oxidative stability remains a challenge. The use of natural antioxidant additives emerges as an effective strategy to extend its lifespan. This study aimed to evaluate the antioxidant efficiency of ethanolic extracts from coffee leaves (*Coffea arabica*), yerba mate (*Ilex paraguariensis*), and jambolão pulp (*Syzygium cumini* Lamarck) on the oxidative stability of biodiesel, considering the action of these extracts in the presence and absence of metal ions Cr³⁺, Mn²⁺, and Co²⁺. The natural extracts were added to the biodiesel, and oxidative stability was assessed by the induction period (IP) and oxidation reaction rate (k) at a constant temperature of 110 °C. A simplex-centroid mixture experimental design was conducted, coupled with optimization by the modified simplex method and desirability function, aiming to maximize IP and minimize k. The adjusted mathematical models showed high coefficients of determination, with adjusted R² of 0.990 for IP and 0.960 for k, and were statistically validated by analysis of variance. Results indicated that all natural extracts increased biodiesel stability by reducing k and increasing IP compared to pure biodiesel (B100). The coffee leaf extract stood out in the absence of metal ions, raising IP to 12.42 hours and reducing k by approximately sixfold. However, the presence of metal ions decreased IP in all samples, with the yerba mate extract being most sensitive to Mn²⁺, showing a 41.61% reduction in IP. The Cr³⁺ ion had a lesser impact, especially in the presence of coffee leaf extract, which exhibited only a 3.55% variation in oxidation rate. In response to the catalytic effect of metals, the jambolão pulp extract demonstrated greater resistance and antioxidant efficacy compared to the other extracts.

Keywords: induction period; oxidation reaction rate; coffee leaves; yerba mate; jambolan pulp.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Óleo de soja comercial utilizado para produção de biodiesel.....	10
Figura 2 -	Gordura de palma comercial utilizada para produção de biodiesel.....	11
Figura 3 -	Processo de transesterificação.....	13
Figura 4 -	Posição dos sítios ativos das moléculas de ésteres metílicos.....	15
Figura 5 -	Rancimat® 837 (Metrohm®).....	21
Figura 6 -	Funcionamento do aparelho Rancimat® 837 (Metrohm®).....	22
Figura 7 -	Cafeeiro (<i>Coffea arabica</i>).....	27
Figura 8 -	Erva-Mate (<i>Ilex paraguariensis</i>).....	28
Figura 9 -	Fruto de Jambolão (<i>Syzygium cumini</i>).....	29
Figura 10 -	Gordura de palma (S.S. Moratto Comércio de Insumos) e óleo de soja utilizados para produção de biodiesel (Coamo®).....	34
Figura 11 -	Embalagem a vácuo das amostras secas. Para a preparação dos extratos, foram pesados 10 g das amostras secas e trituradas, os quais foram colocados em um béquer contendo 250 mL de álcool etílico absoluto (Anidrol, 99,8%). A mistura foi então vedada com filme plástico, envolta em papel alumínio para proteção contra a luz, e mantida em repouso por 48 horas, conforme ilustrado na Figura 12.....	37
Figura 12 -	(1) Pesagem de 10 g de amostra seca, (2) Adição de 250 mL de álcool etílico e (3) Acondicionamento da mistura em papel alumínio e na ausência de incidência luminosa por 48 horas.....	38
Figura 13 -	(1) Filtragem do extrato utilizando papel quantitativo, (2) Concentração do extrato em chapa de aquecimento à temperatura próxima à 60°C.....	38
Figura 14 -	(1) Extrato etanólico de folhas de café, (2) Extrato etanólico de polpa de jambolão, (3) Extrato etanólico de erva-mate.....	41
Figura 15 -	Superfície de resposta para os períodos de indução (a) e taxa de reação (b) das diferentes proporções de extratos de erva mate, folhas de café e polpa de jambolão.....	54
Figura 16 -	Otimização simplex supermodificado dos parâmetros $x_1(a)$, $x_2(b)$, $x_3(c)$ das respostas PI e k e da função de desejabilidade	

D.....	56
Figura 17 - Cromatogramas de HPLC-PDA correspondentes ao extrato etanólico de erva-mate e seus respectivos espectros de PDA dos picos principais.....	64
Figura 18 - Cromatogramas de HPLC-PDA correspondentes ao extrato etanólico de folhas de café e seus respectivos espectros de PDA dos picos principais.....	65
Figura 19 - Cromatogramas de HPLC-PDA correspondentes ao extrato etanólico de polpa de jambolão e seus respectivos espectros de PDA dos picos principais.....	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Teor de ésteres metílicos no biodiesel.	48
Tabela 2 -	Valores dos períodos de indução (110 °C) e taxa de reação de oxidação, obtidos através do delineamento de misturas.	51
Tabela 3 -	Análise de variância para o período de indução (PI).	52
Tabela 4 -	Análise de variância para taxa de reação de oxidação (k).	52
Tabela 5 -	Períodos de indução (PI), taxa de reação de oxidação (k) e R ² da reação de oxidação do biodiesel na presença e ausência de antioxidantes e íons metálicos.	67
Tabela 6 -	Consolidação da interação dos íons metálicos no B100 com adição de extrato natural de erva-mate.	71
Tabela 7 -	Consolidação da interação dos íons metálicos no B100 com adição de extrato natural de folhas de café.	72
Tabela 8 -	Consolidação da interação dos íons metálicos no B100 com adição de extrato natural de polpa de jambolão.	72

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	05
1.1	Óleos vegetais	08
1.1.1	Óleo de soja	09
1.1.2	Gordura de palma	11
1.2	Biodiesel	12
1.2.1	Estabilidade oxidativa.....	14
1.2.2	Oxidação pelo oxigênio singlete.....	17
1.3	Antioxidantes	22
1.3.1	Mecanismo de reação dos antioxidantes na oxidação do biodiesel	23
1.3.2	Antioxidantes.....	24
1.3.3	Folhas de café.....	25
1.3.4	Erva-mate.....	27
1.3.5	Jambolão.....	28
1.4	Delineamento experimental de mistura	29
1.4.1	Simplex modificado – otimização	30
1.4.2	Função de desejabilidade	31
2	OBJETIVOS	33
2.1	Objetivos gerais	33
2.2	Objetivos específicos	33
3	PARTE EXPERIMENTAL	34
3.1	Síntese do Biodiesel	34
3.2	Caracterização físico-química do biodiesel	35
3.3	Análise cromatográfica do biodiesel (CG-MS)	35
3.4	Obtenção dos extratos naturais	36
3.5	Determinação dos compostos fenólicos nos extratos.	39
3.6	Análise cromatográfica de extratos alcoólicos por HPLC-PDA	39
3.7	Análise cromatográfica de extratos alcoólicos por UPLC-	

	MS.....	40
3.8	Preparo das amostras.....	41
3.9	Período de indução (PI).....	42
3.10	Taxa de reação (k).....	42
3.11	Análise estatística.....	43
3.12	Delineamento experimental.....	43
3.13.	Otimização.....	44
4	CAPÍTULO I: ESTUDO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA E DA TAXA DE REAÇÃO DA REAÇÃO DE OXIDAÇÃO DO BIODIESEL EM MISTURA COM EXTRATO ALCOÓLICO DE ERVA-MATE, FOLHAS DE CAFÉ E POLPA DE JAMBOLÃO.	45
4.1	Introdução.....	45
4.2	Resultados e discussão.....	48
4.3	Conclusão.....	57
5	CAPÍTULO II: IMPACTO DOS EXTRATOS NATURAIS ANTIOXIDANTES EM RELAÇÃO AO PERÍODO DE INDUÇÃO E TAXA DE REAÇÃO DA OXIDAÇÃO DO BIODIESEL NA PRESENÇA DE ÍONS METÁLICOS.....	58
5.1	Introdução.....	58
5.2	Resultados e discussão.....	61
5.3	Conclusão.....	73
6	CONCLUSÃO FINAL.....	75
7	TRABALHO FUTURO.....	77
8	REFERÊNCIAS.....	78

1 INTRODUÇÃO

A crescente demanda global por fontes de energia sustentáveis tem estimulado significativos avanços na pesquisa e no desenvolvimento de alternativas aos combustíveis fósseis, entre as quais o biodiesel se destaca como uma opção promissora. Os combustíveis fósseis, amplamente utilizados desde a Revolução Industrial, estão associados a severos impactos ambientais, especialmente à emissão de gases de efeito estufa (GEE), como dióxido de carbono (CO_2) e metano (CH_4), que intensificam o aquecimento global e a poluição atmosférica. Nesse contexto, fontes de energia renováveis e de menor impacto ambiental, como a energia solar, a energia hidrelétrica e os biocombustíveis, têm sido objeto de estudo por seu potencial em promover a mitigação dos efeitos adversos do atual modelo energético. Tais fontes não apenas reduzem a dependência de recursos fósseis, como também se alinham às metas globais de descarbonização e transição para uma matriz energética mais limpa, resiliente e ambientalmente equilibrada (Sharmila; Shanmugavel; Banu, 2024; Prasad *et al.*, 2024; Qi *et al.*, 2024; Peng *et al.*, 2024).

Dentre as diversas fontes de energia renovável, o biodiesel apresenta destaque no grupo dos biocombustíveis, em virtude de sua composição química e do processo tecnológico envolvido em sua produção. Trata-se de uma mistura de monoalquil ésteres de ácidos graxos, obtidos por meio da reação de transesterificação entre óleos vegetais ou gorduras animais e um álcool de cadeia curta, geralmente metanol ou etanol, na presença de um catalisador alcalino, como hidróxido de sódio (NaOH) ou hidróxido de potássio (KOH) (Dogan *et al.*, 2023). Apesar de seu poder calorífico ser inferior ao do diesel, o biodiesel apresenta uma série de vantagens ambientais e operacionais. Entre seus principais benefícios, destaca-se a significativa redução na emissão de poluentes atmosféricos, como material particulado (MP), hidrocarbonetos não queimados (HC), monóxido de carbono (CO) e dióxido de enxofre (SO_2), o que contribui diretamente para a melhoria da qualidade do ar urbano e para a mitigação dos impactos associados às mudanças climáticas globais (Borsato *et al.*, 2014; Pereira *et al.*, 2010; Nirmala *et al.*, 2023).

A produção de biodiesel pode ser realizada a partir de uma ampla variedade de matérias-primas, incluindo óleos vegetais (como soja, palma e canola), gorduras animais e óleos residuais de fritura. No entanto, a composição do perfil de ácidos graxos dessas fontes exerce influência direta sobre a qualidade do produto,

especialmente no que se refere à estabilidade oxidativa do biocombustível. Ácidos graxos insaturados, por exemplo, conferem maior susceptibilidade à oxidação, enquanto os saturados tendem a proporcionar maior resistência à degradação oxidativa. Essa instabilidade pode ser agravada por fatores ambientais, como exposição à luz, temperaturas elevadas, presença de umidade e íons metálicos de transição, como ferro ($\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$) e cobre (Cu^{2+}), que atuam como catalisadores em reações de oxidação. Tais reações resultam na formação de peróxidos e compostos secundários que comprometem propriedades físico-químicas fundamentais, como viscosidade, índice de acidez e outros parâmetros, afetando negativamente o desempenho do biodiesel em motores e sua viabilidade de armazenamento em médio e longo prazos (Rêgo *et al.*, 2020; Coelho *et al.*, 2020; Cherwoo *et al.*, 2023).

Com o objetivo de prolongar a estabilidade e a vida útil do biodiesel durante o armazenamento e o uso, é comum a incorporação de antioxidantes sintéticos, como o BHA (hidroxianisol butilado), o BHT (hidroxitolueno butilado) e o TBHQ (terc-butil-hidroquinona), que atuam inibindo ou retardando as reações de oxidação lipídica (Kimura *et al.*, 2019). Esses aditivos interrompem a formação de radicais livres, preservando as características físico-químicas essenciais do biocombustível. No entanto, em resposta à crescente demanda por soluções mais sustentáveis e ambientalmente responsáveis, tem-se intensificado a busca por antioxidantes naturais obtidos de fontes renováveis, como folhas, frutos e flores de diversas espécies vegetais. Esses materiais são ricos em compostos bioativos com atividade antioxidante, incluindo antocianinas, carotenoides e flavonoides. Além de sua funcionalidade na proteção contra a degradação oxidativa, os antioxidantes naturais apresentam vantagens adicionais, como menor impacto ambiental, biodegradabilidade e, em muitos casos, menor custo de obtenção, especialmente quando derivados de resíduos agroindustriais. Dessa forma, o uso de aditivos naturais representa uma estratégia promissora para a estabilização do biodiesel, alinhando desempenho técnico à sustentabilidade ambiental e econômica (Chendynski *et al.*, 2020; Clemente *et al.*, 2023).

O presente estudo teve como objetivo investigar o potencial antioxidante de extratos alcoólicos obtidos de folha de café (*Coffea arabica*), erva-mate (*Ilex paraguariensis*) e polpa de jambolão (*Syzygium cumini*) aplicados ao substrato do biodiesel, com foco na avaliação de sua eficácia na inibição da oxidação lipídica. A pesquisa contemplou a análise tanto na ausência quanto na presença de íons

metálicos de transição, como o cromo (Cr^{3+}), manganês (Mn^{2+}) e cobalto (Co^{2+}), os quais são reconhecidos catalisadores de processos oxidativos. A investigação foi conduzida por meio de parâmetros cinéticos e indicadores de estabilidade oxidativa, considerando os efeitos isolados e sinérgicos dos extratos vegetais frente à ação pró-oxidante dos metais. Essa abordagem permitiu a avaliação comparativa da eficiência antioxidante dos compostos naturais testados, contribuindo para a identificação de estratégias sustentáveis para a estabilização do biodiesel frente à degradação oxidativa.

A estrutura metodológica adotada neste estudo baseia-se na organização em forma de artigos científicos, cada um desenvolvido a partir de objetivos específicos inter-relacionados, os quais convergem para a temática central da estabilidade oxidativa do biodiesel. Os trabalhos foram realizados de modo a investigar, de forma sistemática, os efeitos da presença de íons metálicos de transição e a aplicação de antioxidantes naturais sobre a cinética de oxidação lipídica do biocombustível, favorecendo a construção de um corpo de conhecimento consistente e integrado acerca de estratégias sustentáveis para sua estabilização.

O Capítulo 1 teve como objetivo avaliar a estabilidade oxidativa do biodiesel por meio da determinação do período de indução (PI) e da taxa de reação de oxidação (k), na presença de extratos alcoólicos com atividade antioxidante obtidos de folhas de café (*Coffea arabica*), erva-mate (*Ilex paraguariensis*) e polpa de jambolão (*Syzygium cumini*). Para a análise dos efeitos isolados e combinados desses extratos naturais, foi utilizado um delineamento estatístico do tipo simplex-centroide aplicado a misturas, em conjunto com uma abordagem de otimização multirresposta. Essa metodologia permitiu não apenas a modelagem dos efeitos antioxidantes, como também a predição das proporções ideais dos extratos vegetais para a maximização da estabilidade oxidativa do biodiesel, contribuindo com dados relevantes para o desenvolvimento de aditivos naturais mais eficientes e ambientalmente sustentáveis.

O Capítulo 2 teve como foco a avaliação do potencial antioxidante de extratos alcoólicos obtidos das mesmas matrizes vegetais, folhas de café (*Coffea arabica*), erva-mate (*Ilex paraguariensis*) e polpa de jambolão (*Syzygium cumini*), aplicados ao biodiesel produzido a partir de duas matérias-primas: óleo de soja (50%) e gordura de palma (50%). A análise foi conduzida tanto na ausência quanto na presença dos íons metálicos de transição Cr^{3+} , Mn^{2+} e Co^{2+} , reconhecidos por sua atuação catalítica em reações de oxidação lipídica. A investigação concentrou-se na determinação dos

efeitos isolados e combinados dos extratos vegetais sobre a estabilidade oxidativa do biodiesel, com especial atenção às possíveis interações sinérgicas ou antagônicas entre os compostos fenólicos presentes nos extratos e os íons metálicos. Essa abordagem permitiu uma compreensão mais aprofundada dos mecanismos envolvidos na proteção oxidativa do biocombustível frente a diferentes fontes lipídicas e ambientes pró-oxidantes.

1.1 ÓLEOS VEGETAIS

Os óleos vegetais são triglicérides obtidos por meio da extração de diferentes partes das plantas, como sementes, frutos e polpas, e apresentam ampla aplicabilidade em diversos segmentos industriais, devido às suas propriedades físico-químicas e à presença de compostos bioativos. Na indústria alimentícia, esses óleos são especialmente valorizados por seu perfil nutricional, destacando-se como importantes fontes de ácidos graxos essenciais (como os ômega-3 e ômega-6), vitaminas lipossolúveis e compostos com reconhecida atividade antioxidante, como tocoferóis, fitoesteróis e polifenóis. A presença desses constituintes tem sido associada a efeitos benéficos à saúde humana, incluindo a modulação do metabolismo lipídico, a proteção contra processos inflamatórios e oxidativos, e a prevenção de doenças cardiovasculares, neurodegenerativas e metabólicas. Essas características também contribuem para a crescente exploração de óleos vegetais como insumos funcionais em formulações alimentícias, farmacêuticas e cosméticas, além de sua relevância como matérias-primas renováveis na produção de biocombustíveis, como o biodiesel (Guimarães *et al*, 2020).

Além do uso culinário, os óleos vegetais apresentam ampla aplicação nas indústrias cosmética e farmacêutica, onde suas propriedades hidratantes, emolientes e antioxidantes são amplamente aproveitadas em formulações tópicas destinadas ao cuidado e à higiene da pele humana. Dentre os óleos mais utilizados nesses setores, destacam-se o óleo de amêndoas e o óleo de rícino, que potencializam os efeitos terapêuticos e estéticos dos princípios ativos presentes nas formulações. Essas características conferem aos óleos vegetais um papel fundamental em sistemas de liberação controlada, contribuindo para a eficácia, estabilidade e segurança dos produtos dermocosméticos e farmacotécnicos. Assim, a versatilidade e funcionalidade desses óleos os tornam insumos valiosos para o desenvolvimento de produtos inovadores com apelo tanto terapêutico quanto cosmético (Figueira; Guidoni; Fronza,

2023; Lira *et al.*, 2021; Belisário *et al.*, 2020).

No contexto energético, os óleos vegetais desempenham um papel estratégico como matéria-prima para a produção de biodiesel, um biocombustível renovável que se apresenta como uma alternativa sustentável aos combustíveis fósseis convencionais. A reação de transesterificação dos triglicerídeos presentes nesses óleos com álcoois de cadeia curta, como metanol ou etanol, resulta na formação de ésteres metílicos ou etílicos, cujas propriedades físico-químicas são compatíveis com o uso em motores diesel convencionais. Além disso, o biodiesel contribui para a redução das emissões de gases de efeito estufa, promovendo um menor impacto ambiental (Rodrigues *et al.*, 2025). A diversificação das fontes de óleos vegetais, incluindo matérias-primas de baixo custo e resíduos agroindustriais, tem sido objeto de intensa pesquisa, com o objetivo de otimizar a relação custo-benefício na produção de biodiesel, bem como minimizar os impactos ambientais associados à sua cadeia produtiva.

1.1.1 Óleo de Soja.

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é reconhecida como uma das leguminosas de maior importância econômica e agrícola em âmbito global. Originária de regiões de clima temperado, essa espécie apresenta ampla capacidade de adaptação a condições subtropicais e tropicais, o que tem favorecido sua expansão em diversas áreas produtoras ao redor do mundo. A viabilidade técnica e econômica da produção de biodiesel está intimamente relacionada à disponibilidade, qualidade e custo das matérias-primas lipídicas utilizadas, sendo a soja uma das principais fontes vegetais exploradas para esse fim. Sua composição média indica aproximadamente 20% de triglicerídeos, 38% de proteínas e 34% de carboidratos, além de quantidades relevantes de fibras e minerais, o que reforça seu papel estratégico tanto na cadeia alimentar quanto na cadeia energética (De Souza *et al.*, 2020).

O óleo extraído dos grãos de soja (Figura 1) destaca-se pela elevada disponibilidade no mercado, alta produtividade agrícola, facilidade de extração e custo competitivo, fatores que o tornam amplamente utilizado como matéria-prima na indústria de biodiesel. O teor de óleo nos grãos geralmente varia entre 18% e 22%, sendo essa variação influenciada por diversos fatores, tais como o genótipo da cultivar, condições edafoclimáticas, época de semeadura, temperatura média,

distribuição das precipitações e práticas de manejo agrônomo. A compreensão detalhada dessas variáveis é fundamental para a otimização da produção de óleo vegetal, o que impacta diretamente na eficiência e sustentabilidade do processo de obtenção de biodiesel em escala industrial (De Souza *et al.*, 2020).

Figura 1. Óleo de soja comercial utilizado para produção de biodiesel.



Fonte: Própria autora.

Os óleos vegetais são compostos predominantemente por triacilgliceróis (TAG), moléculas formadas pela esterificação de três ácidos graxos a uma molécula de glicerol. Os ácidos graxos presentes nos TAG's apresentam variações estruturais relevantes, podendo ser saturados, caracterizados pela ausência de ligações duplas entre átomos de carbono ou insaturados, que possuem uma ou mais ligações duplas, classificando-se como monoinsaturados ou poliinsaturados, respectivamente. Essas diferenças estruturais influenciam diretamente as propriedades físico-químicas do biodiesel produzido a partir desses óleos, afetando parâmetros cruciais como o ponto de fluidez, a estabilidade oxidativa e o poder calorífico do biocombustível (Schug *et al.*, 2023).

O perfil de ácidos graxos do óleo vegetal selecionado para o processo de transesterificação constitui um fator determinante para a qualidade e o desempenho do biodiesel produzido. Uma composição equilibrada entre ácidos graxos saturados e insaturados é desejável, pois contribui para a obtenção de combustíveis com propriedades físico-químicas adequadas, capazes de atender às especificações

técnicas e normativas ambientais vigentes. Esse equilíbrio é fundamental para garantir eficiência energética, boa estabilidade oxidativa e, conseqüentemente, reduzir os impactos ambientais associados à queima do biocombustível (De Souza *et al*, 2020).

1.1.2 Gordura de Palma

A gordura de palma (Figura 2) é um lipídio vegetal extraído do mesocarpo do fruto da palmeira (*Elaeis guineensis*), espécie amplamente cultivada em regiões tropicais, com especial concentração nos países do Sudeste Asiático, responsáveis pelos maiores volumes de produção mundial. Caracteriza-se por sua elevada estabilidade oxidativa, alto ponto de fusão e textura uniforme, atributos que conferem ampla aplicabilidade nas indústrias alimentícia, cosmética e energética. Tradicionalmente empregada em formulações de alimentos industrializados e produtos dermatológicos, a gordura de palma vem ganhando destaque como matéria-prima promissora para a produção de biodiesel, devido ao seu perfil lipídico favorável e custo competitivo, tornando-se uma alternativa estratégica para o setor de biocombustíveis (Da Silva Macêdo *et al*, 2020).

Figura 2. Gordura de palma comercial utilizada para produção de biodiesel.



Fonte: Própria autora.

A composição da gordura de palma é caracterizada por uma alta concentração de ácidos graxos saturados, com destaque para o ácido palmítico (C16), que representa a fração predominante. Além disso, a gordura contém quantidades significativas de tocoferóis e tocotrienóis, variantes da vitamina E, bem como carotenóides, responsáveis pela coloração alaranjada-avermelhada observada no óleo bruto antes do processo de refino. Esses compostos bioativos desempenham um

papel importante na estabilidade oxidativa da gordura, conferindo propriedades antioxidantes que contribuem para a preservação das características físico-químicas do óleo durante o armazenamento e processamento (Cican *et al*, 2021).

Apesar da versatilidade tecnológica e do baixo custo de produção, a expansão da cultura da palma oleaginosa tem gerado preocupações ambientais e sanitárias significativas. Sob a perspectiva ecológica, a conversão de áreas naturais nativas em plantações extensas compromete a biodiversidade local, além de contribuir substancialmente para o desmatamento, especialmente em ecossistemas tropicais sensíveis. Esses impactos ambientais podem resultar em desequilíbrios nos serviços ecossistêmicos, perda de habitat e alterações climáticas regionais, exigindo estratégias de manejo sustentável para minimizar os efeitos negativos associados à expansão dessa cultura.

1.2 BIODIESEL

O desenvolvimento do biodiesel remonta aos primórdios da engenharia dos motores de combustão interna, quando Rudolf Diesel, ao projetar o motor que leva seu nome, investigou o uso de óleos vegetais como fontes alternativas de energia. Entre as primeiras substâncias testadas como alternativa aos fósseis, destacou-se o óleo de amendoim, seguido por outros óleos vegetais, como os de palma, soja, semente de algodão e mamona, todos avaliados quanto ao desempenho em motores operando no ciclo diesel. Esses estudos iniciais evidenciaram que tais óleos apresentavam desempenho técnico satisfatório, confirmando sua viabilidade operacional como combustíveis renováveis e abrindo caminho para o desenvolvimento das tecnologias de biodiesel modernas (Bazyar, 2023).

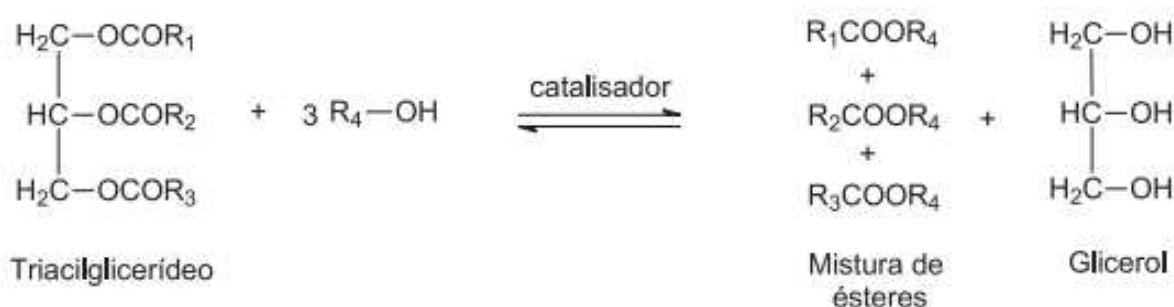
No entanto, a viabilidade econômica desses biocombustíveis mostrou-se limitada, principalmente em função dos elevados custos de produção quando comparados aos combustíveis fósseis convencionais. Essa desvantagem econômica dificultou a adoção em larga escala dos óleos vegetais como fontes energéticas alternativas durante o período inicial de desenvolvimento. Conseqüentemente, apesar do potencial técnico reconhecido nas primeiras décadas de utilização dos motores a diesel, a consolidação dos biocombustíveis derivados de óleos vegetais foi retardada, postergando sua inserção efetiva no mercado energético global.

Apesar das vantagens associadas ao uso de óleos vegetais como combustíveis

alternativos, seu desempenho operacional ainda apresenta limitações em comparação ao diesel fóssil, principalmente devido à elevada viscosidade intrínseca desses óleos e gorduras vegetais. Essa característica pode ocasionar problemas no sistema de injeção e na combustão, como o acúmulo de resíduos carbonáceos nos bicos injetores e nas câmaras de combustão, o que compromete tanto a eficiência quanto a durabilidade dos motores. Portanto, a adequação físico-química dos combustíveis vegetais, por meio de processos como a transesterificação, é fundamental para garantir seu uso eficiente em motores diesel convencionais.

Diante dessa limitação, diversas abordagens tecnológicas têm sido desenvolvidas para modificar a estrutura química dos óleos vegetais, com destaque para a transesterificação, atualmente o método mais empregado na produção de biodiesel (Figura 3). Esse processo envolve a reação dos triglicerídeos presentes nos óleos com um álcool de cadeia curta, geralmente metanol ou etanol, na presença de um catalisador ácido ou básico. Como resultado, formam-se monoalquil ésteres, conhecidos popularmente como biodiesel, e glicerol como subproduto. A transesterificação promove a redução significativa da viscosidade do óleo vegetal, adequando suas propriedades físico-químicas para aplicação eficiente em motores diesel convencionais.

Figura 3. Processo de transesterificação.



Fonte: GERIS et al., 2007.

Além da adequação físico-química que permite seu uso eficiente em motores convencionais, o biodiesel apresenta importantes benefícios ambientais, destacando-se pela significativa redução nas emissões de gases de efeito estufa, alta biodegradabilidade e origem renovável. Essas características consolidam o biodiesel como uma alternativa promissora e sustentável aos combustíveis fósseis tradicionais, contribuindo para a mitigação dos impactos ambientais associados ao setor

energético (Bazyar, 2023; Ma; Hanna, 1999).

O biodiesel pode ser utilizado tanto em sua forma pura (B100) quanto em misturas com diesel fóssil em diferentes proporções, denominadas blends. A adoção dessas misturas possibilita a compatibilização do desempenho operacional dos combustíveis com a infraestrutura veicular e de abastecimento já estabelecida, ao passo que promove reduções significativas nas emissões de poluentes atmosféricos e gases de efeito estufa. Essa flexibilidade no uso do biodiesel contribui para sua ampla aceitação e implementação gradual como alternativa energética sustentável.

1.2.1 Estabilidade Oxidativa

A estabilidade oxidativa é um parâmetro fundamental na avaliação da qualidade e durabilidade dos combustíveis, especialmente do biodiesel. Em relação ao diesel fóssil, o biodiesel apresenta menor resistência à oxidação, processo que ocorre principalmente durante o armazenamento prolongado e resulta na formação de depósitos sólidos, gomas e outros subprodutos que comprometem sua eficiência e segurança operacional. A resistência à oxidação do biodiesel está diretamente relacionada à sua composição molecular, particularmente à estrutura e ao perfil dos ésteres metílicos ou etílicos que o constituem. Ácidos graxos insaturados, caracterizados pela presença de ligações duplas em suas cadeias carbônicas, são mais suscetíveis à oxidação, enquanto os ácidos graxos saturados conferem maior estabilidade química ao combustível. Dessa forma, a escolha da matéria-prima para a produção do biodiesel é determinante, visto que diferentes fontes vegetais e animais apresentam perfis variados de ácidos graxos, impactando diretamente a estabilidade oxidativa do produto (Yamane *et al.*, 2007; Dunn, 2005; Knothe; Steidley, 2005).

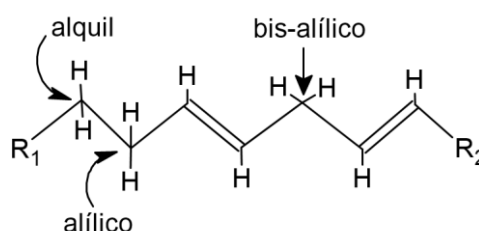
Esse aspecto torna-se fundamental para o desenvolvimento de estratégias destinadas a ampliar a vida útil dos biocombustíveis, envolvendo a incorporação de aditivos antioxidantes, o controle rigoroso das condições de armazenamento e a seleção criteriosa das matérias-primas. Essas abordagens visam otimizar as propriedades químicas do biodiesel, garantindo maior estabilidade oxidativa e desempenho eficiente em suas aplicações energéticas (Clemente *et al.*, 2023).

A estabilidade do biodiesel pode ser comprometida por diversos fatores físico-químicos, entre os quais se destacam a hidrólise, a exposição à radiação luminosa, a decomposição térmica e a contaminação por impurezas, especialmente íons

metálicos catalisadores. Esses agentes promovem reações químicas que levam à formação de compostos indesejáveis, como peróxidos, ácidos graxos livres, aldeídos, cetonas e polímeros, os quais afetam negativamente as propriedades físico-químicas e a qualidade do biocombustível (Clemente *et al*, 2023).

A instabilidade oxidativa do biodiesel está diretamente relacionada ao grau de insaturação presente em suas moléculas. Quanto maior o número de ligações duplas nas cadeias carbônicas, maior é a suscetibilidade do biodiesel à oxidação. A degradação ocorre predominantemente nas posições alílicas, situadas adjacentes às ligações duplas, onde a formação de radicais livres é facilitada. A taxa da reação oxidativa é influenciada não apenas pelo número, mas também pela posição dos sítios alílicos e bis-alílicos presentes na estrutura dos ésteres metílicos que compõem o biodiesel, conforme ilustrado na Figura 4 (Jain; Sharma, 2010).

Figura 4. Posição dos sítios ativos das moléculas de ésteres metílicos.



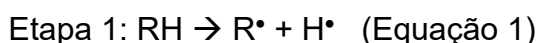
Fonte: JAIN; SHARMA, 2010.

O conhecimento aprofundado desses mecanismos é essencial para a otimização dos processos de produção e armazenamento do biodiesel, além de subsidiar o desenvolvimento de estratégias antioxidantes eficazes, capazes de prolongar a vida útil do biocombustível e assegurar sua qualidade durante a utilização (Clemente *et al.*, 2023).

A oxidação do biodiesel é um processo que compromete suas propriedades físico-químicas e, conseqüentemente, seu desempenho como biocombustível. Essa degradação ocorre, lentamente, de forma espontaneamente na presença de oxigênio atmosférico e pode ser dividida em três etapas principais: iniciação, propagação e terminação (Spacino *et al*, 2022; Schaich, 2005).

Na etapa de iniciação, ocorre a formação de radicais livres altamente reativos, resultantes da ruptura das ligações carbono-hidrogênio (C-H) presentes nos ésteres metílicos ou etílicos do biodiesel. Essa cisão é desencadeada pela interação do

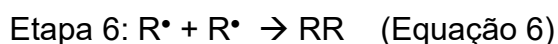
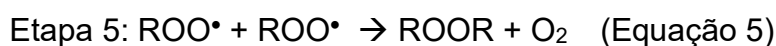
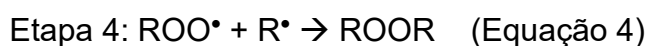
substrato orgânico com o oxigênio molecular e é potencializada por fatores externos, como radiação luminosa, elevação da temperatura e presença de impurezas metálicas. Íons de metais de transição, tais como Co^{2+} , Cr^{3+} e Mn^{2+} , atuam como catalisadores da oxidação, acelerando a formação e propagação dos radicais livres no sistema (Schaich, 2005).



Durante a fase de propagação, os radicais livres (R^\bullet) gerados reagem com o oxigênio molecular ($^1\text{O}_2$) para formar radicais peróxidos orgânicos instáveis (ROO^\bullet). Esses radicais peróxidos perpetuam a reação em cadeia, originando mais radicais livres e hidroperóxidos (ROOH) (Schaich, 2005).



Na etapa de terminação, ocorre a recombinação dos radicais livres, resultando na formação de produtos estáveis e compostos poliméricos. Muitos desses produtos contribuem para a formação de gomas e sedimentos durante o armazenamento, comprometendo a qualidade e a estabilidade do biodiesel (Schaich, 2005).



Conforme mencionado anteriormente, diversos fatores intrínsecos e extrínsecos influenciam diretamente a taxa de oxidação do biodiesel. Entre eles destacam-se a composição do perfil de ácidos graxos da matéria-prima utilizada no processo de transesterificação, a presença de catalisadores metálicos e as condições de armazenamento do biocombustível. Para minimizar os efeitos adversos desses fatores, a adoção de medidas preventivas torna-se indispensável, visando garantir a estabilidade oxidativa e a manutenção da qualidade do biodiesel ao longo do tempo (Knothe; Steidley, 2005).

A estabilidade do biodiesel está diretamente relacionada à composição dos ácidos graxos presentes nos ésteres metílicos que o compõem, especialmente à presença de insaturações nas cadeias carbônicas. Os ésteres metílicos insaturados, tais como metil oleato (monoinsaturado), metil linoleato (di-insaturado) e metil linolenato (tri-insaturado), apresentam diferentes graus de suscetibilidade à oxidação. Essa vulnerabilidade decorre da presença de átomos de hidrogênio nas posições alílicas e, sobretudo, bis-alílicas, localizadas entre duplas ligações conjugadas.

Nessas regiões, os hidrogênios são mais facilmente abstraídos por radicais livres, iniciando a formação de hidroperóxidos e, posteriormente, de produtos de degradação como álcoois, aldeídos, cetonas e ácidos carboxílicos. Os ésteres poliinsaturados são mais reativos frente à oxidação em comparação com os monoinsaturados. Conseqüentemente, a estabilidade oxidativa dos ésteres de ácidos graxos metílicos segue uma ordem decrescente de resistência à oxidação: metil oleato > metil linoleato > metil linolenato. Essa tendência reflete ao aumento da reatividade com o número de insaturações, sendo o metil linolenato o mais suscetível devido à presença de três duplas ligações conjugadas (Branco *et al*, 2025).

A compreensão da influência estrutural dos ésteres insaturados na estabilidade oxidativa do biodiesel é essencial para o desenvolvimento de estratégias que visem ao aprimoramento dessa estabilidade. Entre tais estratégias, destacam-se a utilização de antioxidantes eficazes e a seleção criteriosa de matérias-primas com menor teor de ácidos graxos poli-insaturados, visando prolongar a vida útil e garantir a qualidade do biocombustível (Brown; Kelly, 2007; Jain; Sharma, 2010; Yaakob *et al.*, 2014).

1.2.2 Oxidação pelo Oxigênio Singlete

Do ponto de vista termodinâmico, o oxigênio molecular ($^3\text{O}_2$) em seu estado fundamental não reage diretamente com as ligações duplas presentes em compostos insaturados, como os ésteres de ácidos graxos que compõem o biodiesel. Essa inércia reativa está relacionada à diferença nos estados de spin dos reagentes: o oxigênio no estado fundamental encontra-se em um estado triplete ($^3\text{O}_2$), caracterizado por dois elétrons desemparelhados em orbitais degenerados, enquanto os sistemas orgânicos com ligações duplas geralmente estão em estados singletos, com todos os elétrons emparelhados, o que impede a reação direta entre esses dois tipos de moléculas

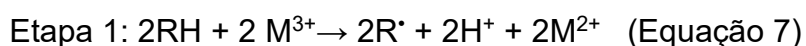
As reações entre estados de spin diferentes, como a interação entre um estado

triplete e um estado singleto, são proibidas pelas regras de seleção de spin, a menos que ocorra uma conversão de spin, processo energeticamente desfavorecido. Para que a oxidação aconteça, é necessário que o oxigênio seja previamente excitado ao seu estado singleto (${}^1\text{O}_2$), no qual os elétrons possuem spins emparelhados, conferindo à molécula alta reatividade em relação às ligações duplas presentes nos ésteres de ácidos graxos.

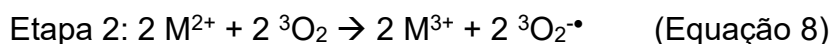
Esse processo de ativação requer uma energia de ativação estimada entre 35 a 65 kcal/mol, o que evidencia que, sob condições ambientais normais, a reação direta entre o oxigênio no estado fundamental e as ligações insaturadas do biodiesel não ocorre de forma espontânea (Borsato *et al.*, 2010).

A oxidação dos ésteres insaturados presentes no biodiesel é fortemente influenciada pela forma do oxigênio molecular envolvido na reação. Conforme mencionado anteriormente, o oxigênio em seu estado fundamental (${}^3\text{O}_2$), caracterizado como um triplete com dois elétrons desemparelhados, apresenta baixa reatividade frente às ligações duplas em moléculas orgânicas em estado singleto. Contudo, diversos estudos indicam que a presença de íons metálicos de transição pode catalisar a conversão do oxigênio do estado triplete para o estado singleto (${}^1\text{O}_2$), este último significativamente mais reativo e capaz de promover a oxidação dos ésteres insaturados (Borsato *et al.*, 2010).

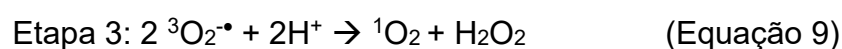
Spacino *et al.* (2022) descrevem um mecanismo pelo qual o oxigênio molecular em seu estado fundamental (${}^3\text{O}_2$) é transformado em seu estado excitado (${}^1\text{O}_2$), catalisado por íons metálicos, genericamente representados nas equações por "M". Esse processo ocorre por meio de uma sequência de reações redox que envolvem compostos orgânicos insaturados. A relevância desse mecanismo é destacada na oxidação do biodiesel, pois acelera significativamente a degradação oxidativa dos ésteres insaturados presentes no combustível.



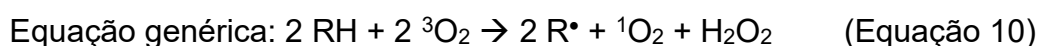
Nessa etapa, os íons metálicos trivalentes (M^{3+}) atuam como agentes oxidantes, promovendo a oxidação de moléculas orgânicas (RH) e gerando radicais livres (R^{\bullet}) e íons H^+ . Simultaneamente, ocorre a redução dos íons metálicos para o estado divalente (M^{2+}), estabelecendo um ciclo redox fundamental para a propagação das reações oxidativas



Os íons metálicos reduzidos (M^{2+}) atuam como doadores de elétrons ao oxigênio molecular em seu estado fundamental ($^3\text{O}_2$), promovendo sua redução e originando o radical superóxido ($^3\text{O}_2^{\bullet-}$). Simultaneamente, ocorre a regeneração dos íons metálicos para sua forma trivalente (M^{3+}), reiniciando o ciclo redox catalítico. Esse processo é fundamental na propagação da oxidação do biodiesel, uma vez que o radical superóxido é altamente reativo e participa de reações subsequentes que degradam os ésteres insaturados.



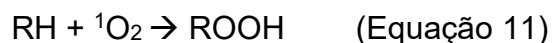
Os radicais superóxidos ($^3\text{O}_2^{\bullet-}$) podem reagir com prótons (H^+), resultando na formação de oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ambos altamente reativos frente a compostos insaturados. Esses produtos intermediários desempenham papel crucial na aceleração das reações oxidativas, promovendo a degradação dos ésteres insaturados presentes no biodiesel e comprometendo sua estabilidade oxidativa.



O resultado desse conjunto de reações é a geração de espécies altamente reativas, como radicais livres (R^{\bullet}) e oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) capazes de iniciar ou propagar reações de oxidação nos ésteres insaturados do biodiesel. A presença contínua dessas espécies reativas reduz significativamente a estabilidade oxidativa do biocombustível, comprometendo sua qualidade durante o armazenamento e utilização.

Esse mecanismo evidencia a relevância do entendimento sobre a atuação dos íons metálicos como catalisadores no processo de oxidação do biodiesel, uma vez que estes promovem um aumento expressivo na taxa de oxidação e na geração de espécies reativas de oxigênio (ROS). Íons metálicos como Co^{3+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} e Mn^{2+} exercem papel central nesse contexto, atuando como mediadores em reações redox que iniciam e propagam a degradação oxidativa dos ésteres insaturados. A presença desses íons, mesmo em concentrações traço, pode comprometer significativamente a estabilidade do biodiesel durante o armazenamento.

Portanto, o mecanismo de formação de hidroperóxidos (ROOH) pode ser explicado pela reação direta entre um éster insaturado (RH) e o oxigênio molecular no estado singlete ($^1\text{O}_2$), conforme representado na equação a seguir:



Essa reação ocorre sem a necessidade de etapas intermediárias de radicalização, uma vez que o oxigênio singlete, por apresentar elétrons emparelhados em orbitais antissimétricos, é altamente eletrofílico e reativo frente a ligações π presentes em compostos insaturados. A formação do hidroperóxido constitui a etapa inicial da degradação oxidativa, podendo levar à geração de aldeídos, cetonas, ácidos carboxílicos e compostos poliméricos ao longo das fases posteriores do processo.

Durante a etapa de propagação da oxidação, especialmente na presença de agentes catalíticos, como íons metálicos de transição, os hidroperóxidos formados (ROOH) sofrem decomposição, originando radicais alcóxi (RO^\bullet) e radicais hidroxila (HO^\bullet). Essas espécies altamente reativas aceleram significativamente o processo de degradação oxidativa, promovendo a formação de uma ampla variedade de produtos secundários de oxidação, tais como aldeídos, cetonas, ácidos carboxílicos e outros compostos oxigenados. A acumulação desses produtos compromete as propriedades físico-químicas do biodiesel, afetando sua estabilidade, eficiência e segurança durante o armazenamento e uso (Lillard; Day, 1964).

1.2.3. Aparelho Rancimat[®]

O ensaio realizado por meio do equipamento Rancimat[®] é amplamente utilizado na avaliação da estabilidade oxidativa do biodiesel, sendo considerado um método padrão na caracterização deste parâmetro. O procedimento consiste em submeter a amostra a uma temperatura elevada, em torno de 110 °C, sob um fluxo contínuo de ar, simulando condições aceleradas de oxidação. Durante o ensaio, são monitoradas as alterações na condutividade elétrica de uma solução aquosa receptora, indicativas da formação de ácidos voláteis oriundos da decomposição oxidativa. O tempo decorrido até a mudança acentuada na condutividade é denominado tempo de indução (PI) e reflete a resistência do biodiesel à oxidação. Este método está normatizado pela especificação europeia EN 14214, sendo amplamente adotado

como referência para controle de qualidade e comparações entre amostras tratadas ou não com antioxidantes.

Para a realização da análise, 7,5 g da amostra de biodiesel foram acondicionados no tubo de ensaio acoplado ao aparelho Rancimat[®], sendo submetidos a aquecimento controlado por meio de um bloco térmico com temperatura previamente ajustada. A oxidação lipídica foi conduzida pelo borbulhamento contínuo de ar atmosférico, com vazão constante de $10 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$. Durante o processo, os produtos voláteis formados pela degradação oxidativa foram arrastados pelo fluxo de ar até uma célula de medição contendo água ultrapura (água Milli-Q) e um eletrodo condutimétrico. A presença de ácidos orgânicos voláteis na água promove o aumento de sua condutividade elétrica, parâmetro monitorado em tempo real para indicar o progresso da oxidação. A Figura 5 ilustra o dispositivo Rancimat[®] utilizado neste trabalho.

Figura 5. Rancimat[®] 837 (Metrohm[®]).



Fonte: Adaptado de Rancimat[®] Metrohm[®] (2013).

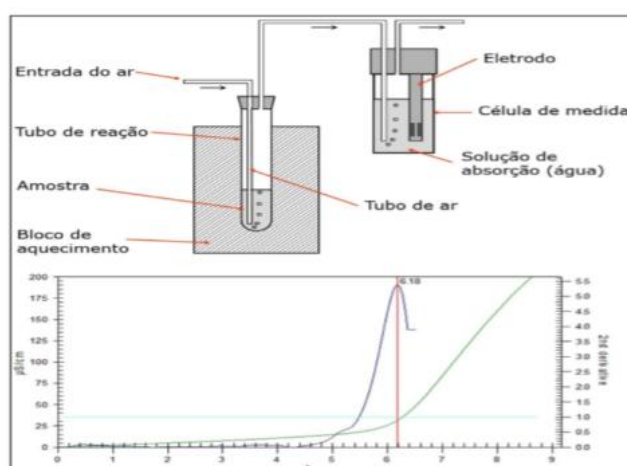
A condutividade elétrica da solução aquosa é monitorada de forma contínua e em tempo real, refletindo o aumento gradual da concentração de compostos voláteis e hidrossolúveis formados ao longo da degradação oxidativa dos ésteres metílicos presentes no biodiesel. Com o prosseguimento do aquecimento da amostra, esses produtos de oxidação, principalmente ácidos orgânicos, acumulam-se na célula de medição, promovendo um aumento significativo da condutividade elétrica da solução, expressa em microsiemens por centímetro ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$). O ponto em que essa elevação se torna abrupta é utilizado como critério para determinar o período de indução da amostra, parâmetro fundamental para avaliar sua estabilidade frente ao processo de oxidação.

O período de indução (PI) é determinado com base no ponto de inflexão da

curva de condutividade elétrica em função do tempo (s), sendo este um parâmetro chave para indicar a resistência do biodiesel à oxidação. Esse ponto marca o início da rápida formação de produtos voláteis de degradação, refletindo a transição entre uma fase de estabilidade relativa e a intensificação da oxidação. O equipamento Rancimat® realiza o registro automático dessa variação, permitindo a quantificação precisa da estabilidade oxidativa do combustível de forma reprodutível e padronizada (Galvan *et al.*, 2013).

A Figura 6 ilustra o princípio de funcionamento do sistema experimental, onde a linha verde representa a variação da condutividade elétrica ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) ao longo do tempo durante a exposição da amostra de biodiesel ao aquecimento acelerado. Essa curva reflete a liberação progressiva de compostos voláteis resultantes da oxidação lipídica. A linha azul corresponde à segunda derivada da curva de condutividade, utilizada para aprimorar a identificação do ponto de inflexão, possibilitando uma determinação mais precisa do período de indução (PI). Além disso, as linhas em azul claro e vermelho são geradas automaticamente pelo software do equipamento Rancimat no momento da detecção e quantificação do valor do PI, conforme os critérios estabelecidos pelo algoritmo do sistema (Galvan *et al.*, 2013).

Figura 6. Funcionamento do aparelho Rancimat® 837 (Metrohm®).



Fonte: Adaptado de Rancimat® Metrohm® (2013).

1.3 ANTIOXIDANTES

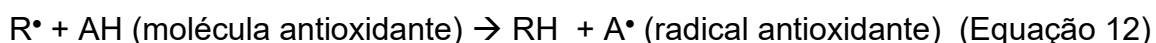
Com o objetivo de reduzir a taxa de reação de oxidação e prolongar o período de indução do biodiesel, antioxidantes são amplamente utilizados devido à sua

capacidade de reagir com radicais livres gerados durante as etapas de iniciação e propagação do processo oxidativo. Ao interceptar esses radicais, os antioxidantes formam produtos estáveis e inertes, interrompendo a reação em cadeia. Dessa forma, promovem a ampliação da estabilidade oxidativa do biodiesel, contribuindo para a manutenção das propriedades físico-químicas do combustível e para a extensão de sua vida útil (Clemente *et al*, 2023).

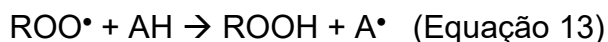
Para a seleção adequada de um antioxidante a ser aplicado no biodiesel, é imprescindível considerar inicialmente as condições de produção do combustível, a compatibilidade química do aditivo com o substrato, sua potência antioxidante e as características desejadas relacionadas à estabilidade oxidativa almejada. A escolha do antioxidante deve ser orientada pelas propriedades específicas que se pretende conferir ao produto final, observando especialmente os parâmetros estabelecidos por normas técnicas, como a EN 14214, que estabelece os requisitos mínimos de qualidade para o biodiesel. Tais critérios asseguram que o aditivo selecionado seja eficaz e seguro, atendendo às condições operacionais e às exigências regulatórias vigentes (Lillard; Day, 1964).

1.3.1 Mecanismo de Reação dos Antioxidantes na Oxidação do Biodiesel

A reação em cadeia da autooxidação do biodiesel é iniciada e propagada pela formação de radicais livres altamente reativos. A desativação precoce desses radicais é o fator-chave para a interrupção do processo oxidativo, evitando a formação de subprodutos que perpetuam a degradação do combustível. Dessa forma, os antioxidantes devem ser incorporados preferencialmente antes do início do estresse oxidativo do biodiesel, ou seja, imediatamente após sua obtenção no processo industrial, com o objetivo de prevenir a geração inicial das espécies reativas. É importante ressaltar que os ésteres já oxidados presentes no biodiesel não podem ser revertidos pela adição tardia de antioxidantes, visto que a ação desses compostos é predominantemente preventiva, e não reparadora. A inibição da reação em cadeia por radicais livres pode ser genericamente representada pelas seguintes equações:



e/ou



Na Equação 12, o radical alquila (R^\bullet) reage com a molécula do antioxidante, resultando na formação de um composto estável (RH) e na geração do radical antioxidante (A^\bullet). Já na Equação 13, o radical peroxila (ROO^\bullet), principal agente da propagação da oxidação, é convertido em hidroperóxido (ROOH) por meio da ação do antioxidante, que também o neutraliza. Em ambos os casos, a formação do radical antioxidante (A^\bullet), que apresenta menor reatividade e maior estabilidade, interrompe a reação em cadeia, contribuindo para o aumento da estabilidade oxidativa do biodiesel.

É fundamental que o radical livre gerado a partir da molécula antioxidante (A^\bullet) não possua capacidade de iniciar ou propagar novas reações oxidativas, devendo manter-se suficientemente estável para interromper a cadeia reacional. Nesse contexto, a eficácia de um antioxidante está diretamente relacionada à sua habilidade de interferir nos mecanismos de formação e propagação dos radicais livres. Importa salientar que os antioxidantes não competem com o substrato pela molécula de oxigênio, tampouco atuam como agentes que absorvem o oxigênio molecular. Pelo contrário, sua ação se dá exclusivamente pela interrupção do processo de autooxidação, agindo nas etapas de iniciação e propagação da reação em cadeia. Dessa forma, tanto antioxidantes naturais quanto sintéticos desempenham seu papel estabilizante por meio da neutralização dos radicais livres, elemento crucial para a prevenção da degradação oxidativa do biodiesel (Lillard; Day, 1964).

1.3.2 Antioxidantes

Historicamente, os primeiros antioxidantes naturais aplicados na indústria alimentícia incluíam compostos como a lecitina e a resina de guaiaco, utilizados em baixas concentrações. Com o avanço tecnológico e a crescente demanda por maior estabilidade dos produtos, os antioxidantes sintéticos começaram a substituir os naturais, destacando-se o propilgalato (PG) como um dos primeiros compostos amplamente empregados. Nas décadas seguintes, antioxidantes como o butil-hidroxi-anisol (BHA) e o butil-hidroxi-tolueno (BHT) tornaram-se largamente utilizados, em virtude da sua comprovada eficácia na prevenção da oxidação lipídica.

Entretanto, preocupações crescentes relativas à toxicidade, ao potencial carcinogênico e aos efeitos citotóxicos dos antioxidantes sintéticos levaram à

imposição de restrições e até mesmo à proibição do uso desses compostos em diversos setores industriais de alguns países europeus, conforme relatado por Domingos *et al.* (2007). Diante desse contexto, houve um renovado interesse pelos antioxidantes naturais, impulsionado pela busca por alternativas mais seguras e ambientalmente sustentáveis.

Os antioxidantes naturais são compostos que se oxidam preferencialmente em relação aos substratos que protegem, atuando como agentes sacrificiais ao interromper a cadeia de reações oxidativas. Entre os exemplos mais amplamente reconhecidos estão os tocoferóis, amplamente empregados na conservação de óleos vegetais, como o azeite. Além disso, diversas especiarias, como canela, orégano, pimenta-do-reino e noz-moscada, apresentam propriedades antioxidantes expressivas. Destaca-se a noz-moscada, que demonstra maior eficácia especialmente em sistemas emulsificados do tipo óleo-em-água (Mittelbach; Schober, 2003).

A otimização da combinação entre diferentes antioxidantes pode promover um efeito sinérgico, ampliando a eficiência na proteção contra a oxidação e, conseqüentemente, na conservação das propriedades físico-químicas do biodiesel ao longo do tempo. Essa abordagem permite potencializar a ação antioxidante mesmo sob condições de estresse térmico ou exposição ao oxigênio. Ademais, é vantajosa a associação de antioxidantes com agentes sequestrantes de íons metálicos traços, como ácido cítrico e ácido fosfórico, que atuam na complexação desses íons mesmo em baixas concentrações. Tal estratégia é relevante, pois íons metálicos como ferro (Fe^{2+} , Fe^{3+}) e cobre (Cu^{2+}) desempenham papel catalítico na aceleração das reações oxidativas, favorecendo a decomposição de hidroperóxidos (ROOH) e a geração de radicais livres (R^{\cdot}). A presença desses metais pode reduzir significativamente o tempo de estocagem do biodiesel, comprometendo sua estabilidade oxidativa. Esses dados ressaltam a necessidade de controle rigoroso dos níveis de contaminantes metálicos durante o processo produtivo e ao longo da cadeia de armazenamento do biodiesel, visando garantir sua qualidade e durabilidade (Clemente *et al.*, 2023)

1.3.3 Folhas de Café

As folhas de café (*Coffea arabica*) destacam-se como uma fonte promissora de antioxidantes naturais para aplicação na indústria do biodiesel. Pesquisas indicam que

os extratos alcoólicos dessas folhas são ricos em compostos bioativos, tais como ácido clorogênico, ácido cafeico e diversos compostos fenólicos, os quais possuem elevada capacidade de neutralização de radicais livres. Essa atividade antioxidante exerce um papel fundamental na inibição da oxidação lipídica, contribuindo para o retardamento do processo de degradação oxidativa do biodiesel.

Devido à sua composição fitoquímica rica em compostos bioativos, os extratos de folhas de café apresentam potencial significativo para aplicação como estabilizantes naturais do biodiesel, configurando uma alternativa viável aos antioxidantes sintéticos convencionais. Além de contribuírem para a redução dos custos de produção, esses antioxidantes naturais promovem menor impacto ambiental, alinhando-se às crescentes demandas por processos mais sustentáveis ao longo da cadeia produtiva de biocombustíveis (Jenkins *et al.*, 2016).

Embora os extratos das folhas de café apresentem benefícios promissores como antioxidantes naturais para aplicação em biodiesel, seu uso ainda se encontra em estágio exploratório. Torna-se imprescindível conduzir avaliações rigorosas e prolongadas da estabilidade química e funcional desses extratos durante o armazenamento, bem como analisar sua compatibilidade com os processos industriais convencionais de produção e conservação do biodiesel.

Adicionalmente, a eficácia antioxidante dos extratos de folhas de café deve ser comparada rigorosamente com a dos antioxidantes sintéticos padrão, visando assegurar que essa alternativa natural apresente desempenho equivalente, ou até mesmo superior, aos compostos sintéticos convencionais. Somente por meio dessas validações será possível garantir a viabilidade técnica e econômica da aplicação desses extratos como estabilizantes naturais na indústria de biocombustíveis (Regazzoni *et al.*, 2016).

Figura 7. Cafeeiro (*Coffea arabica*).



Fonte: Própria Autora.

1.3.4 Erva-Mate

A erva-mate (*Ilex paraguariensis*) (Figura 8) é uma planta arbórea nativa das regiões Sul e Centro-Oeste do Brasil, bem como do Norte da Argentina e do Paraguai. Seu uso tradicional remonta às populações indígenas da América do Sul, sendo posteriormente adotado e difundido pelos colonizadores europeus. O consumo da erva-mate é culturalmente marcado por bebidas típicas, como o chimarrão, servido quente e o tererê, consumido frio, ambas elaboradas a partir das folhas e ramos finos da planta (Suveges, 2014).

A composição química da erva-mate, utilizada na obtenção de extratos e biomassa comercial, é fortemente influenciada por fatores ambientais e agrônômicos, tais como o clima, o tipo de cultivo e a origem geográfica da planta. Entre os principais compostos bioativos presentes destacam-se os polifenóis, especialmente os ácidos clorogênico e cafeico, além das xantinas, como a cafeína e a teobromina. A planta também contém flavonoides importantes, como quercetina, canferol e rutina, além de aminoácidos, minerais e vitaminas. Essa diversidade fitoquímica confere à erva-mate propriedades funcionais que a tornam uma fonte promissora para aplicações nutricionais, farmacêuticas e industriais (Dartora, 2010).

Figura 8. Erva-Mate (*Ilex paraguariensis*).



Fonte: Própria Autora.

1.3.5 Jambolão

O jambolão (*Syzygium cumini*) é uma fruta conhecida por diversos nomes regionais no Brasil. Originária da Indonésia, China e Antilhas, essa espécie demonstra excelente adaptação às condições climáticas brasileiras, sendo cultivada em várias regiões do país. As árvores do jambolão são de grande porte e frutificam entre os meses de janeiro e maio. Os frutos apresentam formato ovóide e um processo de maturação característico, que se inicia com a coloração branca, evolui para o vermelho e culmina em um tom púrpura intenso na casca (Figura 9). A polpa do fruto é carnosa e comestível, embora apresente sabor adstringente, o que limita seu consumo popular no Brasil. Apesar disso, o jambolão é bastante presente em áreas urbanas, onde as árvores são frequentemente utilizadas no paisagismo de calçadas e vias públicas (Wu; Prior, 2005).

Estudos cromatográficos conduzidos por De Brito *et al.* (2007) identificaram uma diversidade significativa de antocianinas presentes na casca do jambolão, destacando compostos como delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina e malvidina. A atividade antioxidante atribuída à casca do fruto está relacionada à presença desses pigmentos, além de vitaminas, compostos fenólicos e taninos. Esses constituintes exercem um papel fundamental na neutralização de radicais livres formados durante as etapas de oxidação, indicando o potencial dos extratos do jambolão como agentes antioxidantes naturais capazes de retardar a degradação oxidativa do biodiesel (Faria *et al.*, 2011).

Figura 9. Fruto de Jambolão (*Syzygium cumini*).



Fonte: Própria Autora.

1.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL DE MISTURA

O delineamento experimental é um método utilizado para o planejamento eficiente e sistemático de experimentos, com o objetivo de otimizar produtos e processos. Entre as diversas abordagens disponíveis, o delineamento de misturas destaca-se por sua aplicação específica na formulação e ajuste das proporções dos componentes avaliados, os quais influenciam diretamente as propriedades e o desempenho final da mistura. Essa técnica permite investigar de forma estruturada as interações entre substâncias bioativas, facilitando a identificação das proporções ideais para atingir as características desejadas, ao mesmo tempo em que reduz significativamente o número de experimentos necessários (Cornell, 1990; Marchl *et al.*, 2010).

Na metodologia de delineamento experimental de misturas, as variáveis de resposta dependem diretamente das proporções relativas entre os componentes. Contudo, em muitas aplicações práticas, alguns componentes da mistura apresentam restrições quanto a seus limites mínimos e/ou máximos, o que limita a região experimental disponível. Para contornar essa limitação, McLean e Anderson (1966) propuseram a realização dos experimentos nos vértices extremos da região factível, bem como em diversos centróides situados dentro dessa área viável. Essa abordagem, conhecida como delineamento de vértices extremos, permite uma exploração eficiente do espaço de formulação mesmo diante das restrições impostas às composições. Complementarmente, os delineamentos desenvolvidos por Scheffé (1963) fornecem estruturas robustas para o estudo do comportamento das misturas em domínios experimentais restritos, contribuindo de forma significativa para a otimização de formulações

complexas (Scheffé, 1963).

1.4.1 Simplex Modificado – Otimização

O princípio do simplex básico, descrito por Spendley *et al.* (1962), baseia-se no deslocamento sistemático de uma figura geométrica regular, como um triângulo equilátero no caso de duas variáveis ou um tetraedro para três variáveis, sobre a superfície da resposta experimental. O objetivo é identificar, por meio de avaliações sucessivas, regiões de máximo ou mínimo, aproximando-se progressivamente das condições ótimas do sistema analisado. Como evolução dessa técnica, Nelder e Mead (1965) propuseram o simplex modificado, também conhecido como método de Nelder-Mead, que confere maior flexibilidade à forma e ao tamanho do simplex, permitindo sua adaptação à geometria local da superfície de resposta. Essa capacidade de adaptação torna o método especialmente eficaz em problemas onde o gradiente da função objetivo não está disponível ou é de difícil determinação, sendo amplamente aplicado na otimização de processos químicos, formulações e estudos de estabilidade.

Com os avanços computacionais, Pires *et al.* (1998) desenvolveram um aplicativo para microinformática que incorporou uma funcionalidade de inicialização automática ao método do simplex modificado. Nesse procedimento, o processo de otimização, seja para maximização ou minimização de uma variável resposta, começa com a definição dos limites inferiores (L_i) e superiores (U_i) para cada fator sob controle experimental. O primeiro vértice do simplex supermodificado é estabelecido pelas coordenadas correspondentes aos níveis inferiores de todos os fatores, enquanto os demais vértices são obtidos seguindo a técnica geométrica descrita por Spendley *et al.* (1962), assegurando a formação de um simplex regular inicial dentro da região experimental viável. Essa abordagem automatizada proporciona maior eficiência e precisão na condução do processo de otimização, além de reduzir o tempo e os recursos necessários para a exploração das condições ótimas.

Após a construção do simplex modificado inicial, o sistema é avaliado nas condições experimentais correspondentes aos seus vértices. As respostas obtidas são classificadas em três categorias: B (melhor resposta), N (respostas intermediárias) e W (pior resposta). A etapa seguinte do algoritmo consiste na substituição do vértice W pela sua reflexão (R) em relação à hiperface formada pelos

vértices remanescentes. Essa operação tem o objetivo de explorar uma nova região no espaço de resposta, potencialmente mais favorável. A direção do movimento de reflexão é determinada a partir do centroide (P) dos vértices restantes, que serve como referência geométrica para orientar o simplex em direção à região de melhor desempenho. Esse procedimento iterativo de substituição e realocação dos vértices permite a convergência eficiente do algoritmo ao ponto ótimo experimental (Bona *et al*, 2000).

1.4.2 Função de Desejabilidade

As funções de desejabilidade, originalmente propostas por Harrington (1965) e posteriormente aprimoradas por Derringer e Suich (1980), são amplamente utilizadas para a otimização simultânea de múltiplas respostas em experimentos. Conforme descrito por Derringer e Suich (1980), essa abordagem consiste na transformação das variáveis dependentes (respostas) em valores adimensionais de desejabilidade individual (d_n), os quais variam no intervalo de $0 \leq d_n \leq 1$ (Derringer; Suich, 1980).

$$d_n = \left(\frac{y_n - a}{b - a} \right)^s \quad (\text{Equação 14})$$

Para:

$$d_n = 0 \quad \text{para } y_n \leq a \text{ (limite inferior)}$$

$$0 < d_n < 1 \quad \text{para } a < y_n < b$$

$$d_n = 1 \quad \text{para } y_n \geq b \text{ (limite superior)}$$

Onde a e b representam os valores dos limites inferiores e superiores, respectivamente, d_n varia de 0 a 1 e s é um parâmetro ponderal subjetivo utilizado na transformação, a ser especificado pelo usuário. Valores de s menores que 1 (até 0,1) ou maiores que 1 (até 10) modificam a importância relativa das respostas, facilitando a busca pelo ponto ótimo. No presente estudo, o valor de s foi fixado em 1 para ambas as respostas.

Quando o objetivo é a maximização da variável Y_n , que representa a resposta prevista pelo modelo obtido através do planejamento experimental, define-se que $d_n = 0$ para valores de $Y_n \leq a$ (limite inferior) e $d_n = 1$ para $Y_n \geq b$ (limite superior). Para

objetivos de minimização, os limites são invertidos, aplicando-se o complemento da função de desejabilidade, ou seja, $1-d_n$.

A função de desejabilidade global D é calculada como a média geométrica das desejabilidades individuais d_n , conforme a fórmula.

$$D = (d_1 \times d_2 \dots d_n)^{\frac{1}{n}} \quad (\text{Equação 15})$$

No contexto da otimização baseada na função de desejabilidade global D , valores próximos de zero indicam que pelo menos uma das respostas avaliadas é completamente insatisfatória, o que torna a solução experimental inviável. Por outro lado, quando $D = 1$, todas as respostas atingem seus níveis máximos de desejabilidade, caracterizando a situação ideal. Dessa forma, essa abordagem permite a identificação eficiente das condições experimentais ótimas, considerando simultaneamente múltiplos critérios de desempenho, o que é fundamental para a otimização integrada de processos e formulações (Derringer; Suich, 1980).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

O presente estudo teve como objetivo avaliar a estabilidade oxidativa do biodiesel B100, produzido a partir da combinação de gordura de palma e óleo de soja, considerando a influência da adição de extratos naturais antioxidantes e a presença de íons metálicos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir biodiesel a partir de gordura de palma e óleo de soja.
- Obter extratos etanólicos de folhas de café, erva-mate e polpa de jambolão.
- Determinar a estabilidade oxidativa do biodiesel pelo método acelerado utilizando o equipamento Rancimat®.
- Calcular a taxa de reação de oxidação do biodiesel.
- Avaliar a influência dos extratos antioxidantes naturais e dos íons metálicos no processo de degradação do biodiesel.
- Avaliar o potencial antioxidante dos extratos alcoólicos em biodiesel, na presença e ausência dos íons Cr^{3+} , Mn^{2+} e Co^{2+} .

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 SÍNTESE DO BIODIESEL

A reação de transesterificação dos triglicerídeos foi conduzida utilizando uma mistura composta por 50%_(m/m) de gordura de palma (S.S. Moratto Comércio de Insumos, São Paulo/SP, Lote SE-0518/25672) e 50%_(m/m) de óleo de soja (Coamo[®], Lote 423058), conforme ilustrado na Figura 10.

Figura 10. Gordura de palma (S.S. Moratto Comércio de Insumos) e óleo de soja utilizados para produção de biodiesel (Coamo[®]).



Fonte: Própria Autora.

A reação de transesterificação dos triglicerídeos foi conduzida utilizando uma mistura composta por 50% de gordura de palma (S.S. Moratto Comércio de Insumos, São Paulo/SP, Lote SE-0518/25672) e 50% de óleo de soja (Coamo[®], Lote 423058), conforme ilustrado na Figura 10. Como reagente, utilizou-se metanol absoluto (FMaia, PA 99,8%) e, como catalisador, hidróxido de potássio (KOH) (SIGMA–ALDRICH, 95%). A reação foi conduzida com 2 g de KOH, 250 g da mistura de matérias-primas e 125 mL de metanol. A mistura reacional foi aquecida a 60 °C sob refluxo, com agitação constante, durante 2 horas.

Após a reação, as fases foram separadas por meio de funil de separação, permitindo a remoção da fase contendo glicerina. O biodiesel bruto foi submetido a um processo de purificação em duas etapas de lavagem: a primeira utilizando uma solução aquosa de ácido clorídrico a 1% (m/m), com o objetivo de remover resíduos

alcalinos formados durante a transesterificação; e a segunda com água destilada aquecida a 80 °C, repetida até que o pH da solução atingisse a neutralidade. Finalizada a lavagem, o biodiesel foi desumidificado por tratamento com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), visando à completa remoção de traços de umidade residual.

Para a etapa de secagem do biodiesel, utilizou-se sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) previamente ativado por aquecimento em estufa a 120 °C durante 1 hora, assegurando a completa eliminação de umidade do agente secante. Após o resfriamento, o Na_2SO_4 seco foi adicionado a um béquer de 500 mL contendo o biodiesel previamente lavado e com pH neutro. A mistura permaneceu em repouso por 1 hora. Esse procedimento visou garantir a obtenção de um biodiesel adequado para as análises posteriores.

Após o período de quimiossorção, a mistura de biodiesel e sulfato de sódio anidro foi submetida à filtração a vácuo, com o objetivo de remover completamente o agente secante. O biodiesel obtido após esse processo apresentou aspecto límpido e ausência visível de umidade, sendo considerado seco e apto para as análises subsequentes de estabilidade oxidativa conduzidas no presente estudo.

3.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO BIODIESEL

A caracterização físico-química do biodiesel foi realizada conforme metodologias padronizadas. A massa específica a 20 °C foi determinada de acordo com o método ASTM D4052. O ponto de fulgor foi obtido pelo método ASTM D93, enquanto a viscosidade cinemática a 40 °C foi avaliada conforme a norma ASTM D445. O índice de iodo foi determinado segundo a norma EN 14111, e o índice de acidez, pela ASTM D664. O teor de água foi quantificado por meio do método ASTM D6304. Por fim, os pontos de névoa e de fluidez foram determinados com base no procedimento descrito na norma ASTM D2500.

3.3 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DO BIODIESEL (CG-MS)

Para a quantificação dos ésteres metílicos presentes nas amostras de biodiesel, foram pesadas alíquotas de 0,0200 g em balança analítica de precisão, as quais foram transferidas para tubos de microcentrifuga (Eppendorf®). Posteriormente, adicionaram-se 500 µL de uma solução padrão do éster metílico do ácido tricosanoico

(C23:0), preparada em heptano com concentração de $1,0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Sigma-Aldrich). Esse padrão interno foi utilizado para determinação das áreas cromatográficas e quantificação relativa dos ésteres.

Após homogeneização da mistura, foram injetados $2 \mu\text{L}$ da amostra em um cromatógrafo a gás Shimadzu GC-2010 Plus acoplado a um detector de massas QP2010 Ultra. A separação dos ésteres metílicos foi realizada utilizando uma coluna capilar RESTEK RT-2560 de sílica fundida, com 100 m de comprimento, $0,25 \text{ mm}$ de diâmetro interno e $0,20 \mu\text{m}$ de espessura de filme, contendo como fase estacionária 100% biscianopropilpolisiloxano não ligado.

A vazão do gás hélio (He), utilizado como gás de arraste, foi determinada automaticamente pelo sistema, em função das condições operacionais e das propriedades da coluna. A pressão da linha foi mantida em 110 kPa , com fluxo total de $17,1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, enquanto a pressão interna da coluna foi estabilizada em $0,28 \text{ kPa}$, resultando em um fluxo linear de $11,1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. A amostragem foi realizada no modo split, com razão de divisão 1:50, e a temperatura do injetor foi mantida a $240 \text{ }^\circ\text{C}$.

A temperatura inicial da coluna foi mantida em $190 \text{ }^\circ\text{C}$ por 2 minutos, seguida por um aquecimento gradual até $200 \text{ }^\circ\text{C}$ à taxa de $2,0 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, onde permaneceu por mais 2 minutos. Posteriormente, a temperatura foi novamente elevada para $230 \text{ }^\circ\text{C}$, também a uma taxa de $2,0 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, mantendo-se por mais 2 minutos. A interface entre o cromatógrafo gasoso (CG) e o espectrômetro de massas (MS) foi mantida a $240 \text{ }^\circ\text{C}$, enquanto o detector operou a $200 \text{ }^\circ\text{C}$. O detector funcionou no modo SCAN, realizando varredura de massas na faixa de m/z 35 a 500, com início da varredura retardado em 15 minutos para o corte do solvente, totalizando um tempo de análise de 35 minutos.

As áreas dos picos cromatográficos foram obtidas utilizando o software Post Run Analysis. A identificação dos ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES) foi realizada por comparação dos tempos de retenção das amostras com os da amostra padrão de óleo de soja, bem como com os dados presentes na biblioteca do software Bibliotec. A quantificação dos FAMES foi efetuada por padronização interna, empregando o tricosanoato de metila como padrão interno.

3.4 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS NATURAIS

Foram preparados extratos alcoólicos a partir de folhas de café arábica (*Coffea*

arabica) (Cadastro SISGEN ABA1234), erva-mate (*Ilex paraguariensis*) (Cadastro SISGEN A957A9) e polpa de jambolão (*Syzygium cumini Lamark*) (Cadastro SISGEN A45BABD). A erva-mate (marca 81®, lote 113) foi adquirida em estabelecimento comercial localizado em Londrina/PR. As folhas de café e a polpa de jambolão foram coletadas na Universidade Estadual de Londrina, em locais distintos, cujas coordenadas geográficas são: -23.327877, -51.200190 para a folha de café e -23.328047, -51.197556 para o jambolão.

As amostras de folhas de café, erva-mate e polpa de jambolão foram secas em estufa a 60 °C até atingirem massa constante. Posteriormente, foram trituradas e acondicionadas em embalagens a vácuo para preservação da qualidade, conforme ilustrado na Figura 11.

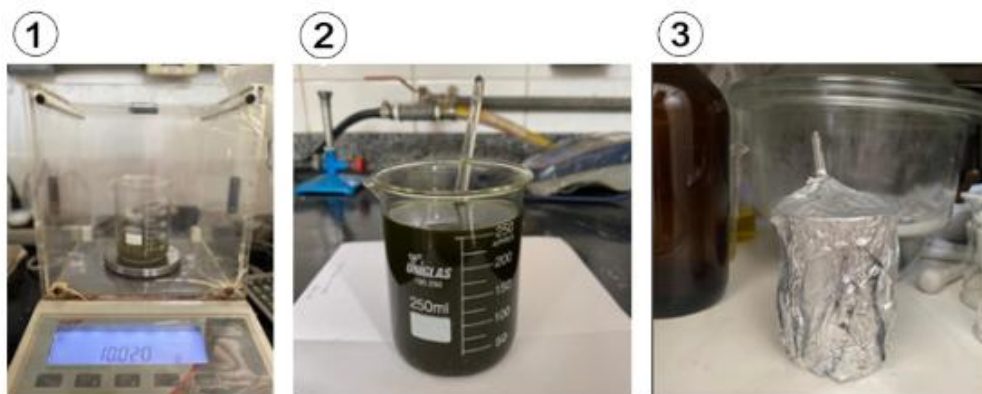
Figura 11. Embalagem a vácuo das amostras secas.



Fonte: Própria Autora

Para a preparação dos extratos, foram pesados 10 g das amostras secas e trituradas, os quais foram colocados em um béquer contendo 250 mL de álcool etílico absoluto (Anidrol, 99,8%). A mistura foi então vedada com filme plástico, envolta em papel alumínio para proteção contra a luz, e mantida em repouso por 48 horas, conforme ilustrado na Figura 12.

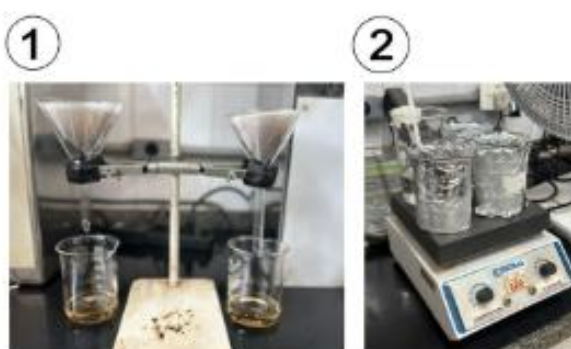
Figura 12. (1) Pesagem de 10 g de amostra seca, (2) Adição de 250 mL de álcool etílico e (3) Acondicionamento da mistura em papel alumínio e na ausência de incidência luminosa por 48 horas.



Fonte: Própria Autora.

Ao término do período de 48 horas, o extrato foi filtrado por meio de um funil de vidro equipado com papel filtro quantitativo. Em seguida, o filtrado foi submetido à concentração em chapa de aquecimento, mantendo-se a temperatura próxima a 60 °C, até que o volume fosse reduzido para menos de 50 mL, conforme ilustrado na Figura 13.

Figura 13. (1) Filtragem do extrato utilizando papel quantitativo, (2) Concentração do extrato em chapa de aquecimento à temperatura próxima à 60°C.



Fonte: Própria Autora.

O volume concentrado do extrato foi transferido para um balão volumétrico de 50 mL e completado com etanol absoluto até o menisco. Posteriormente, o balão foi protegido com papel alumínio e armazenado sob refrigeração, garantindo a conservação do extrato para os ensaios realizados neste trabalho.

3.5 DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS NOS EXTRATOS.

A quantificação dos compostos fenólicos presentes nos extratos alcoólicos naturais foi realizada no Laboratório de Quimiometria em Ciências Naturais (LQCN/UEL) por espectrofotometria UV-Vis, utilizando o equipamento Thermo Scientific, modelo Evolution 60, com leitura na faixa de 760 nm, pelo método de Folin–Ciocalteu. A metodologia de Kumazawa *et al.* (2004) foi adaptada para as concentrações dos extratos analisados, incluindo ajustes na concentração do reagente de Folin (0,2 N) e na solução de carbonato de sódio (7,5 % *m/m*). Foram realizadas diluições adequadas dos extratos para garantir leituras de absorvância dentro da faixa de linearidade do equipamento.

Os volumes utilizados nas diluições foram definidos com base em estudos preliminares, garantindo que os valores de absorvância estivessem dentro dos limites da curva analítica. As diluições foram preparadas mediante a transferência de volumes específicos dos extratos alcoólicos para balões volumétricos de 50 mL, completando-se o volume até o menisco com álcool etílico absoluto. As amostras foram homogeneizadas, mantidas protegidas da luz por uma hora, centrifugadas e, em seguida, submetidas à leitura de absorvância. O teor total de compostos fenólicos foi calculado e expressado em miligramas equivalentes de ácido gálico (EAG) por grama de matéria seca (Romagnoli *et al.*, 2018).

3.6 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DE EXTRATOS ALCOÓLICOS POR HPLC-PDA.

A análise cromatográfica foi empregada para caracterizar a diversidade química dos extratos etanólicos, possibilitando a separação física dos compostos e a detecção dos seus perfis espectrais de absorção molecular nas regiões ultravioleta e visível. Entre os principais compostos analisados destacam-se fenóis, clorofila, flavonoides, ácidos orgânicos, antocianinas e seus derivados. Para tanto, utilizou-se um cromatógrafo líquido da Thermo Scientific® (modelo Finnigan Surveyor 61.607), acoplado a um detector Plus Photodiode Array (PDA) (San Jose, EUA), com monitoramento espectral na faixa de 190 a 800 nm. A eluição foi realizada em modo gradiente, sob temperatura controlada de 20 °C, com vazão constante de 1000 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$.

O sistema de fase móvel foi constituído por água ultrapura (fase A) e acetonitrila

(fase B), com gradiente de eluição programado da seguinte forma: 10% de fase B mantido constante durante os primeiros 5 minutos; aumento linear para 70% de fase B entre 5 e 25 minutos; manutenção em 70% de fase B de 25 a 40 minutos; redução para 10% de fase B entre 40 e 45 minutos; e estabilização final em 10% de fase B por mais 5 minutos. Para a separação, foi utilizada uma coluna ACE5 C18 (250 mm x 4,6 mm de diâmetro interno, com tamanho de partícula de 5 μm), e o volume de injeção foi de 20 μL .

Os extratos foram previamente diluídos na proporção de 1:100 em fase móvel inicial do gradiente cromatográfico e filtrados com membrana de PTFE de 0,20 μm (Chromafil® Xtra, 20/25 mm). A metodologia foi adaptada de Pauli *et al.* (2019), e os dados obtidos foram processados utilizando o software ChromQuest 4.2.

3.7 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DE EXTRATOS ALCOÓLICOS POR UPLC-MS.

Para complementar a detecção e identificação de compostos presentes nos extratos alcoólicos não detectados pelo HPLC-PDA, realizou-se análise por UPLC-MS, com ênfase especial na identificação de antocianinas e seus derivados. As análises foram conduzidas em um espectrômetro de massas Bruker Daltonics COMPACT QTOF, operando em modo de polaridade positiva, com faixa de massa entre 50 e 3000 m/z. O sistema estava acoplado a um cromatógrafo líquido de ultra-alta eficiência (UFLC) da Shimadzu, equipado com duas bombas de alta pressão (modelo LC-20AD), detector UV (modelo UFLC-SPD-20A) e amostrador automático (modelo SIL-20AHT) para GPC ou UFLC. A eluição foi realizada em gradiente sob temperatura controlada, variando entre 20 e 60 $^{\circ}\text{C}$, com vazão constante de 0,1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

O sistema solvente da fase móvel consistiu em água ultrapura (A) e acetonitrila (B), com eluição em modo gradiente: 10% de B mantido constante por 5 minutos; aumento para 70% de B entre 5 e 25 minutos; manutenção de 70% de B de 25 a 40 minutos; redução para 10% de B entre 40 e 45 minutos; e estabilização em 10% de B por mais 5 minutos. A coluna utilizada foi uma KINETEX 5 μm EVO C18 100 Å (100 mm x 4,2 mm diâmetro interno), com volume de injeção de 200 μL . O extrato foi diluído na proporção de 1:100 na fase móvel inicial da corrida cromatográfica e filtrado com membrana de PTFE (Chromafil® Xtra, 20/25 mm, 0,20 μm). A metodologia de Pauli *et al.* (2019) foi adaptada para este estudo, e os dados foram processados utilizando

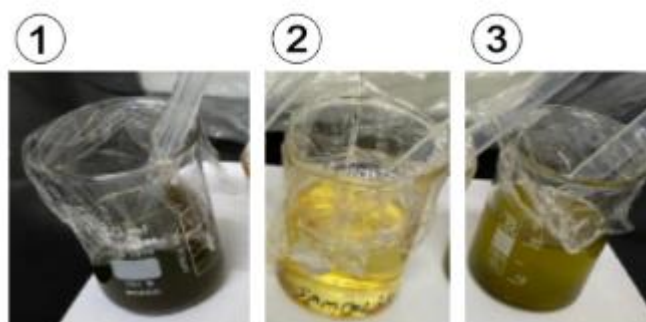
o software DataAnalysis 4.3 (Bruker).

3.8 PREPARO DAS AMOSTRAS

As amostras de biodiesel foram preparadas individualmente, adicionando-se íons metálicos Cr^{3+} (na forma de $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Cinética, 97%), Mn^{2+} ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, Vetec, 99%) e Co^{2+} ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Biotec, 98%) na concentração de $2,49 \times 10^{-5}$ mol de cátion por 100 g de biodiesel, tanto na ausência quanto na presença dos extratos naturais previamente isentos de álcool (Clemente et al, 2023).

Para cada 100 g de amostra de biodiesel, com ou sem adição de íons metálicos, foram adicionados individualmente 9,75 mL do extrato de folhas de café, 8,55 mL do extrato de erva-mate e 18,3 mL do extrato de polpa de jambolão, correspondendo a 42,8 mg equivalentes de ácido gálico (EAG) para cada extrato (Figura 14).

Figura 14. (1) Extrato etanólico de folhas de café, (2) Extrato etanólico de polpa de jambolão, (3) Extrato etanólico de erva-mate.



Fonte: Própria Autora.

Esses volumes foram determinados a partir de testes experimentais preliminares, assegurando que cada amostra de biodiesel apresentasse a mesma concentração de compostos fenólicos, expressos em equivalentes de ácido gálico (EAG), com índice de proteção (PI) igual ou superior a 8 horas, valor mínimo exigido pela norma EN 14214.

Antes da adição ao biodiesel, o álcool presente nos extratos foi removido por evaporação em placa de aquecimento a $60\text{ }^\circ\text{C}$. As amostras de biodiesel contendo íons metálicos permaneceram em repouso por 2 horas antes de serem submetidas ao ensaio de estabilidade oxidativa.

3.9 PERÍODO DE INDUÇÃO (PI)

O período de indução (PI) foi determinado utilizando o equipamento Rancimat[®], modelo 873, da Metrohm[®] Instruments. Para a realização do experimento no Rancimat[®], foram preparadas amostras contendo 7,5 g de biodiesel em cada tubo de ensaio, nas condições com e sem adição dos extratos naturais e/ou metais de transição. O ensaio foi conduzido a uma temperatura constante de 110 °C, com fluxo de ar contínuo de 10 L·h⁻¹.

3.10 TAXA DE REAÇÃO (K)

Para analisar as taxas de reação de oxidação nos ensaios, foram utilizados os dados obtidos no equipamento Rancimat[®]. Aplicou-se a Equação 16 para cada ensaio, ajustando o logaritmo natural (ln) da condutividade elétrica em função do tempo (horas), após o tratamento dos dados do ensaio de estabilidade oxidativa acelerada a 110 °C.

Para determinar a taxa de reação de oxidação do biodiesel, tanto na presença quanto na ausência de antioxidantes naturais e metais de transição, adotou-se o modelo cinético de primeira ordem.

$$\ln \Lambda = \ln \Lambda_0 - k(t_f - t_i) \quad \text{Equação (16)}$$

Onde:

- Λ é a condutividade elétrica no tempo (t).
- Λ_0 é a condutividade inicial ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$);
- t_i e t_f correspondem aos tempos inicial e final, respectivamente.

Com os dados de tempo (em horas) e do logaritmo natural da condutividade elétrica, foram elaborados gráficos para realizar o ajuste da equação linear correspondente ao modelo cinético de primeira ordem. Esse procedimento permite determinar a taxa de reação de oxidação do biodiesel a partir da inclinação da reta obtida.

3.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA.

Os parâmetros estatísticos dos modelos, como os coeficientes de determinação (R^2) e a análise de variância (ANOVA), foram calculados utilizando o software Statistica (2018), versão 13.4.0. A ANOVA é uma ferramenta estatística utilizada para comparar as médias de dois ou mais grupos, possibilitando avaliar se as diferenças observadas entre esses grupos são estatisticamente significativas.

Por sua vez, o coeficiente de determinação (R^2) quantifica a proporção da variabilidade total dos dados que é explicada pelo modelo de regressão. Em outras palavras, ele indica o quão bem o modelo ajustado representa os dados observados. Quanto mais próximo de 1 for o valor de $R^2_{ajustado}$, maior será a capacidade do modelo em explicar as variações presentes nos dados dos ensaios.

3.12 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.

Foi utilizado o delineamento experimental de mistura do tipo simplex-centroide, com combinação $2^q - 1$, onde q representa o número de componentes cuja soma das proporções é igual a 1 (ou 100%). Foram incluídas duas repetições no ponto central do desenho experimental (Lancheros *et al.*, 2023).

O modelo matemático adotado consiste em uma equação de regressão cúbica especial, composta por termos lineares e de interação binária e ternária entre os componentes da mistura. Esse modelo serve para descrever a relação entre as proporções dos componentes e a variável resposta (Equação 17).

$$Y = \sum_{i=1}^q \gamma_i \overset{\circ}{x}_i + \sum_{1 \leq i < j \leq q} \gamma_{ij} \overset{\circ}{x}_i \overset{\circ}{x}_j + \gamma_{ijq} \overset{\circ}{x}_1 \overset{\circ}{x}_2 \overset{\circ}{x}_3 + \varepsilon \quad (\text{Equação 17}).$$

Onde:

- Y é a função resposta dos dados experimentais (período de indução e taxa de reação).
- x_1 , x_2 e x_3 são os componentes que correspondem às proporções dos extratos alcoólicos de erva-mate (x_1), folhas de café (x_2) e polpa de jambolão (x_3) na mistura.
- γ são os parâmetros estimados do modelo.

- ε representa o erro experimental.

3.13. OTIMIZAÇÃO.

O modelo matemático empregado teve como finalidade otimizar as proporções dos componentes da mistura, com vistas à maximização ou minimização de funções resposta específicas, como o aumento do período de indução (PI) e a redução da taxa de reação de oxidação (k). Esses parâmetros são fundamentais para a avaliação da estabilidade oxidativa do biodiesel, considerando cenários com e sem a presença de extratos naturais e íons metálicos. A utilização deste modelo permite investigar os efeitos sinérgicos ou antagônicos entre os extratos etanólicos naturais de erva-mate, folhas de café e polpa de jambolão, possibilitando a identificação da combinação mais eficaz para prolongar a estabilidade do biodiesel frente aos processos oxidativos.

As variáveis x_1 , x_2 e x_3 correspondem, respectivamente, às proporções dos extratos alcoólicos de erva-mate, folhas de café e polpa de jambolão. As funções resposta foram ajustadas por meio da aplicação da função de desejabilidade global (D), que permite a otimização simultânea de múltiplas variáveis dependentes. Essa função transforma cada resposta em um valor adimensional no intervalo de 0 a 1, representando o grau de atendimento aos critérios previamente estabelecidos. Valores de D próximos a 1 indicam alta desejabilidade e maior adequação aos objetivos experimentais, enquanto valores próximos a 0 refletem condições menos favoráveis à estabilidade oxidativa do biodiesel.

As variáveis x_1 , x_2 e x_3 representam, respectivamente, as proporções dos extratos alcoólicos de erva-mate, folhas de café e polpa de jambolão. As funções resposta foram ajustadas por meio da função de desejabilidade (D), a qual permite a otimização simultânea de múltiplas respostas. Essa função atribui valores entre 0 e 1, indicando o grau de satisfação dos critérios estabelecidos onde, valores próximos a 1 representam maior desejabilidade em relação aos objetivos do estudo, enquanto valores próximos a 0 indicam condições menos favoráveis.

Dessa forma, a função de desejabilidade se mostra eficiente para a identificar a melhor condição experimental favoráveis para o período de indução e a menor taxa de reação de oxidação do biocombustível (Derringer; Suich, 1980; Bona *et al.*, 2000)

4 CAPÍTULO I: ESTUDO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA E DA TAXA DE REAÇÃO DA REAÇÃO DE OXIDAÇÃO DO BIODIESEL EM MISTURA COM EXTRATO ALCOÓLICO DE ERVA-MATE, FOLHAS DE CAFÉ E POLPA DE JAMBOLÃO.

RESUMO

Esta pesquisa avaliou a eficiência antioxidante de extratos etanólicos de folhas de café (*Coffea arábica*), erva-mate (*Ilex paraguariensis*) e polpa de jambolão (*Syzygium cumini* Lamarck) na estabilidade oxidativa do biodiesel. Foi aplicado o delineamento de mistura simplex-centroide, associado ao algoritmo de otimização simplex supermodificado e à função de desejabilidade, tendo como variáveis-resposta o período de indução (PI) e a taxa de reação de oxidação (k) a 110 °C. Todos os extratos demonstraram atividade antioxidante, evidenciada pela redução da taxa de reação e aumento do PI, em comparação à amostra controle. Os modelos matemáticos ajustados apresentaram coeficientes de determinação ($R^2_{ajustado}$) de 0,990 para PI e 0,960 para k. A análise de variância (ANOVA) indicou significância estatística para ambos os modelos com $p = 7,382 \times 10^{-4}$ para PI e $p = 1,177 \times 10^{-3}$ para k e falta de ajuste não significativa com $p = 0,132$ e $p = 0,653$, respectivamente, validando-os para fins preditivos. A análise das superfícies de resposta, aliada à otimização por desejabilidade, indicou que as melhores respostas (maior PI e menor k) foram obtidas com maiores proporções do extrato de folhas de café.

4.1 INTRODUÇÃO

Os combustíveis fósseis, atualmente as principais fontes de energia utilizadas globalmente, exercem impactos significativos sobre o meio ambiente por serem os principais emissores de gases de efeito estufa (Clemente *et al.*, 2023). Em função dessa desvantagem ambiental, pesquisas científicas vêm se intensificando com o objetivo de identificar substitutos mais sustentáveis para os combustíveis fósseis (Kahimbi *et al.*, 2023). Dentre as alternativas investigadas, o biodiesel, obtido a partir de matérias-primas renováveis, como óleos vegetais e gorduras animais, destaca-se como uma opção promissora ao diesel de petróleo. Além de poder ser produzido localmente, o biodiesel apresenta uma série de vantagens, incluindo sua origem renovável, a redução na emissão de hidrocarbonetos aromáticos, óxidos de enxofre e

gases de efeito estufa. Outro aspecto relevante é o potencial de aproveitamento da glicerina, subproduto gerado na reação de transesterificação, o que contribui para o aumento da sustentabilidade do processo de produção do biocombustível (Bazyar, 2023).

Apesar dos benefícios ambientais associados ao biodiesel, sua estabilidade oxidativa é inferior à do diesel mineral, devido à presença de ésteres de ácidos graxos insaturados com duplas ligações na cadeia carbônica (Kahimbi *et al.*, 2023). Essa característica o torna mais suscetível à oxidação, o que pode comprometer sua qualidade e desempenho em motores automotivos. A degradação oxidativa do biodiesel resulta em aumento da viscosidade e acidez, além da formação de gomas e compostos sólidos, fatores que podem obstruir filtros e danificar o sistema de injeção. Adicionalmente, durante as etapas de produção, transporte e armazenamento, a exposição à umidade e a íons de metais de transição, como ferro e cobre, comumente presentes em tanques e equipamentos, pode catalisar reações de oxidação, acelerando o processo de degradação e reduzindo significativamente a vida útil e a confiabilidade do combustível (Kimura *et al.*, 2019; Clemente *et al.*, 2023 Borsato *et al.*, 2014).

A susceptibilidade do biodiesel à oxidação não está relacionada apenas à quantidade de insaturações presentes nas cadeias carbônicas dos ésteres graxos, mas também à localização dessas insaturações na estrutura molecular. Em especial, os hidrogênios presentes em sítios bis-aliílicos são facilmente removidos durante a etapa de iniciação da oxidação, favorecendo a formação de radicais livres e, conseqüentemente, a propagação da reação em cadeia (Spacino *et al.*, 2022). Esse processo leva à geração de produtos de decomposição secundários, como peróxidos, aldeídos e ácidos, os quais comprometem a qualidade do combustível, podendo causar entupimentos no sistema de alimentação, aumento da acidez e até corrosão dos componentes metálicos dos motores. Para mitigar esses efeitos e prolongar o tempo de estocagem, é comum a adição de antioxidantes, sintéticos ou naturais, logo após a produção do biodiesel. Esses compostos atuam como inibidores das reações oxidativas, promovendo maior estabilidade química ao produto (Clemente *et al.*, 2023).

Portanto, para viabilizar a comercialização adequada do biodiesel, torna-se essencial o uso de antioxidantes, os quais têm como função principal aumentar o período de indução (PI), reduzir a taxa de reação de oxidação e prolongar a

estabilidade durante o armazenamento (Dunn, 2005; Clemente *et al.*, 2023).

Entre as estratégias empregadas para conter o processo oxidativo, destaca-se a utilização de antioxidantes sintéticos, amplamente aplicados pela indústria devido à sua eficácia e custo-benefício. Dentre os mais utilizados, encontram-se o butil-hidroxi-anisol (BHA), o butil-hidroxi-tolueno (BHT) e a terc-butil-hidroquinona (TBHQ), conhecidos por sua capacidade de atuar como doadores de hidrogênio, interrompendo a cadeia de reações radicais livres que promovem a degradação oxidativa do biodiesel (Coppo *et al.*, 2014; Kimura *et al.*, 2019).

Entretanto, extratos de origem natural, com propriedades antioxidantes, tem ganhado relevância devido a sua fácil obtenção se comparado com a síntese complexa e cara dos antioxidantes sintético e vêm se tornando uma alternativa para retardar a reação de oxidação e reduzir o custo final de produção do biocombustível (De Souza *et al.*, 2020; Kahimbi *et al.*, 2023).

Resultados de estudos realizados sobre o efeito sinérgico apresentado por antioxidantes naturais mostram que, em alguns casos, dependendo da temperatura do experimento, a mistura de antioxidantes naturais é mais eficiente que de forma isolada. Coppo *et al.*, (2014), utilizando o delineamento de mistura simplex-centroide, em conjunto com a otimização multirresposta, mostrou que uma mistura contendo 25% de extrato etanólico de alecrim e 75% de extrato etanólico de orégano foi mais eficaz que a utilização de cada um deles isoladamente, para retardar o processo de oxidação do biodiesel obtido a partir de óleo de soja. Gregório *et al.*, (2018), observaram um aumento na energia de ativação necessária para a oxidação do biodiesel na presença de extratos de folhas de sálvia e café, isoladamente ou em mistura. De acordo com Clemente *et al.*, (2023), a adição de extrato alcóolico de casca de jaboticaba aumentou o período de indução do biodiesel em relação à amostra controle e diminuiu as constantes de taxa em cada temperatura avaliada.

O presente trabalho teve como objetivo analisar o período de indução (PI) e a taxa de reação (k) da oxidação do biodiesel na presença dos extratos alcoólicos, com propriedades antioxidantes, de folha de café, erva mate e polpa de jambolão, sendo empregado o delineamento de misturas simplex centroide, método de otimização simplex supermodificado e a função de desejabilidade.

4.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO.

O biodiesel utilizado neste estudo foi obtido por meio da reação de transesterificação de uma mistura de 50% sendo óleo de soja e 50% gordura de palma. Como reagentes, foram empregados álcool metílico como agente alquilante e hidróxido de potássio (KOH) como catalisador básico. Após o processo de purificação, a caracterização do produto foi realizada por cromatografia gasosa, a qual confirmou que a composição do biodiesel era majoritariamente constituída por ésteres metílicos de ácidos graxos, com cadeias variando entre C16 e C22.

A caracterização físico-química do biodiesel produzido revelou que o teor de ésteres metílicos de ácidos graxos saturados correspondeu a 33,86% m/m, enquanto os insaturados totalizaram 62,99% m/m (Tabela 1). Em relação às propriedades termofísicas, o biodiesel apresentou ponto de fulgor médio de 176,7 °C, sendo este valor elevado para 185,7 °C na presença de extrato antioxidante. A massa específica a 20 °C foi de 874,2 kg m⁻³, e a acidez foi de 0,059 ± 0,017 mg KOH g⁻¹. O ponto de névoa e o ponto de fluidez foram determinados em 5 °C e 4 °C, respectivamente. O índice de iodo foi de 97,23 g I₂ 100 g⁻¹ e a viscosidade cinemática foi de 4,31 mm² s⁻¹. Todos os parâmetros avaliados encontram-se dentro dos limites estabelecidos para o biodiesel B100, conforme a Resolução ANP nº 920, de 2023 (BRASIL, 2023).

Tabela 1. Teor de ésteres metílicos no biodiesel.

Metil éster	% (m/m)
Palmitoleato de metila (C16:1)	0,850
Palmitato de metila (C16:0)	27,88
Estearato de metila (C18:0)	5,780
Oleato de metila (C18:1)	29,06
Linoleato de metila (C18:2)	30,20
Linoleniato de metila (C18:3)	2,880
Docosanoato de metila (C22:0)	0,200
Total	96,85

Fonte: Própria autora.

Os extratos alcoólicos de erva-mate, folhas de café e polpa de jambolão, empregados como aditivos com propriedades antioxidantes em misturas com biodiesel, foram submetidos à quantificação do teor de fenóis totais pelo método de

Folin-Ciocalteu. Os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de massa seca (mg EAG g^{-1}), sendo obtidos os seguintes valores: 25,03 mg EAG g^{-1} para o extrato de erva-mate, 21,89 mg EAG g^{-1} para o extrato de folhas de café e 11,68 mg EAG g^{-1} para o extrato de polpa de jambolão. Em estudo conduzido por Frizon *et al.* (2015), foram analisadas 111 amostras de erva-mate oriundas de diferentes regiões do Estado do Paraná, Brasil (Sudeste, Centro-Sul e Região Metropolitana de Curitiba). Os teores de fenóis totais dessas amostras, também determinados pelo método de Folin-Ciocalteu, apresentaram variação entre 23,07 e 168,50 mg g^{-1} .

Gregório *et al.* (2018) investigaram a influência do extrato alcoólico de folhas de café sobre o período de indução e os parâmetros termodinâmicos do biodiesel derivado do óleo de soja e gordura de palma. No entanto, o teor de fenóis totais do extrato utilizado por esses autores foi de 12,472 mg EAG g^{-1} de massa seca, valor inferior ao determinado no presente estudo, que foi de 21,89 mg EAG g^{-1} . Em relação ao jambolão, Brandão *et al.* (2011) avaliaram o teor de fenóis totais em frutos *in natura*, em diferentes estágios de maturação, observando valores variando de 208,30 a 338,89 mg 100 g^{-1} . Os maiores teores de compostos fenólicos foram encontrados no estágio verde, enquanto a concentração de taninos foi mais elevada no estágio verde/roxo. Ressalta-se, contudo, que comparações diretas devem ser interpretadas com cautela, uma vez que, conforme apontado por Frizon *et al.* (2015), o teor de fenóis totais pode ser influenciado por diversos fatores, incluindo a região de cultivo, as práticas agrônômicas, a variedade vegetal, o período de coleta e os procedimentos utilizados na extração dos compostos fenólicos.

Os ensaios de estabilidade oxidativa foram realizados utilizando o equipamento Rancimat® 873, com o objetivo de determinar os valores do período de indução (PI) e da taxa de reação de oxidação (k). As amostras de biodiesel foram preparadas individualmente, por adição dos extratos naturais de erva-mate, folhas de café e polpa de jambolão, isentos de etanol, em 100 g de biodiesel, sendo mantidas em repouso por 24 horas. Os volumes adicionados foram, respectivamente, 8,55 mL, 9,78 mL e 18,33 mL, determinados a partir de testes preliminares com o objetivo de padronizar a concentração de 42,80 mg EAG g^{-1} dos extratos adicionados ao biodiesel em todas as formulações e garantir um PI igual ou superior a 8 horas, valor mínimo estabelecido pela norma EN 14214. A remoção do etanol presente nos extratos foi realizada por evaporação em placa de aquecimento a 60 °C, antes da incorporação ao biodiesel.

As misturas binárias e ternárias foram elaboradas conforme delineamento experimental de misturas (Tabela 2).

As amostras de biodiesel controle e aquelas contendo extratos isentos de álcool, formuladas conforme o delineamento de misturas, foram submetidas ao ensaio de oxidação acelerada utilizando o equipamento Rancimat® 873. Os ensaios foram conduzidos a 110 °C, conforme os parâmetros estabelecidos pela norma EN 14112, para determinação do período de indução (PI). Com base nos dados obtidos, foram calculadas as constantes de velocidade da reação de oxidação (k) para cada formulação.

Os valores do período de indução (PI) foram determinados a partir do ponto de inflexão das curvas de condutividade elétrica em função do tempo, sendo obtidos para a amostra controle e para cada uma das formulações definidas pelo delineamento de misturas. As taxa de reação de oxidação do biodiesel (k) foram calculadas com base na inclinação da reta obtida por ajuste linear do logaritmo natural da condutividade elétrica *versus* função do tempo de reação (horas), conforme descrito na Equação 16. Os coeficientes de determinação (R^2) obtidos e variaram de 0,9837 a 0,9917, evidenciando um ajuste satisfatório dos modelos aos dados experimentais e mostrando que a escolha da reação de primeira ordem para a descrição dos processos oxidativos analisados foi adequada.

A Tabela 2 apresenta o delineamento de misturas dos extratos naturais utilizados, bem como os respectivos valores dos períodos de indução (PI) e das taxas de reação de oxidação (k) do biodiesel, determinados a 110 °C. Os resultados indicam que todas as formulações contendo extratos apresentaram aumento nos valores de PI e redução nas taxas de oxidação (k), em comparação com a amostra controle. Dentre os ensaios, destaca-se o ensaio 2, que apresentou o maior valor de PI e a menor taxa de reação de oxidação, evidenciando a maior eficácia antioxidante. Esses resultados sugerem que o extrato alcoólico de folhas de café possui maior potencial na inibição da degradação oxidativa do biodiesel, contribuindo para o aumento de sua estabilidade e tempo de armazenamento, conforme também observado por Coppo *et al.*, (2014) e Clemente *et al.* (2023).

Tabela 2. Valores dos períodos de indução (110 °C) e taxa de reação de oxidação, obtidos através do delineamento de misturas.

Ensaio	Mistura ^a	PI (h)	k (h ⁻¹)
1	(1;0;0)	9,95	0,2573
2	(0;1;0)	12,42	0,2296
3	(0;0;1)	11,25	0,2310
4	(1/2;1/2;0)	10,51	0,2585
5	(1/2;0;1/2)	9,91	0,2470
6	(0;1/2;1/2)	10,24	0,2667
7	(1/3;1/3;1/3)	10,06	0,268
8	(1/3;1/3;1/3)	9,06	0,2613
9	(1/3;1/3;1/3)	10,02	0,2645
Controle	(0;0;0)	2,35	1,3323

^a (Proporção: x₁: erva mate; x₂:folhas de café; x₃:polpa de jambolão).

Fonte: Própria autora.

A aplicação do teste t para amostras simples, tendo como referência a média dos nove ensaios realizados, indicou que apenas os ensaios 2 e 3, que apresentaram os maiores valores de período de indução (PI), diferiram significativamente, com valores de p variando de $2,111 \times 10^{-4}$ a $2,602 \times 10^{-2}$, respectivamente. Para esses mesmos ensaios, observaram-se também os menores valores taxa de reação de oxidação (k), os quais diferiram significativamente da média geral dos ensaios, com valores de p variando de $1,139 \times 10^{-4}$ a $1,642 \times 10^{-3}$. Ressalta-se que todas as formulações avaliadas apresentaram valores de PI iguais ou superiores à 8 horas, atendendo ao requisito mínimo estabelecido pela norma EN 14214 para estabilidade oxidativa do biodiesel.

Com a aplicação do delineamento de misturas, conforme os modelos representados nas equações 18 e 19, foram obtidos os valores de período de indução (PI) e da taxa de reação de oxidação (k), respectivamente. Os termos estatisticamente não significativos em nível de 5% ($p > 0,05$) foram excluídos das equações, de modo a refinar os modelos preditivos. Os valores indicados abaixo dos coeficientes correspondem aos respectivos desvios padrão, refletindo a precisão das estimativas obtidas.

$$Y_{PI} = 9,936x_1 + 12,406x_2 + 11,236x_3 - 2,418x_1x_2 - 2,478x_1x_3 - 6,098x_2x_3 \quad (\text{Equação 18})$$

(0,082)

(0,082)

(0,082)

(0,360)

(0,360)

(0,360)

$$Y_k = 0,258x_1 + 0,229x_2 + 0,232x_3 + 0,063x_1x_2 + 0,149x_2x_3 \quad (\text{Equação 19})$$

$$(0,003) \quad (0,003) \quad (0,003) \quad (0,013) \quad (0,013)$$

Os coeficientes de determinação R^2 e R^2_{ajustado} , que indicam a proporção da variância dos dados explicada pelo modelo de regressão, foram utilizados para avaliar o ajuste das equações 18 e 19. Para a Equação 18, que representa o modelo para o período de indução (PI), os valores obtidos foram de $R^2 = 0,996$ e $R^2_{\text{ajustado}} = 0,990$, enquanto para a equação 19, referente às taxas de reação de oxidação (k), os valores foram $R^2 = 0,980$ e $R^2_{\text{ajustado}} = 0,960$.

De acordo com Maia *et al.*, (2011), os resultados mostraram que os modelos obtidos podem ser considerados aceitáveis e adequados para procedimentos de otimização por apresentarem coeficientes de determinação iguais ou superiores a 0,960 e com desvios de regressão não significativos (Tabelas 3 e 4)

Tabela 3. Análise de variância para o período de indução (PI).

Fonte	SQ	GL	QM	F	p ₁
Modelo	5,658	5	1,132	164,979	7,382x10 ⁻⁴
Erro total	2,058 x 10 ⁻²	3	6,860 x 10 ⁻³		
Falta de Ajuste	1,551 x 10 ⁻²	1	1,551 x 10 ⁻²	6,123	0,132
Erro puro	5,067 x 10 ⁻³	2	2,533 x 10 ⁻³		
Ajuste total	5,679	8	0,710		

SQ: Soma dos quadrados; GL: Grau de liberdade; QM: Quadrado médio; F: Estatística F; p: p_{valor}.

Fonte: Própria autora.

Tabela 4. Análise de variância para taxa de reação de oxidação (k).

Fonte	SQ	GL	QM	F	p ₂
Modelo	1,690x10 ⁻³	4	4,226x10 ⁻⁴	49,145	1,177x10 ⁻³
Erro total	3,440x10 ⁻⁵	4	8,599x10 ⁻⁶		
Falta de Ajuste	1,194x10 ⁻⁵	2	5,968x10 ⁻⁶	0,531	0,653
Erro puro	2,246x10 ⁻⁵	2	1,123x10 ⁻⁵		
Ajuste total	1,725x10 ⁻³	8	2,156x10 ⁻⁴		

SQ: Soma dos quadrados; GL: Grau de liberdade; QM: Quadrado médio; F: Estatística F; p: p_{valor}.

Fonte: Própria autora.

Os termos lineares foram os que mais contribuíram para o aumento do período de indução, enquanto as misturas binárias, representadas em negrito na equação, foram as antagonistas, contribuindo negativamente para a resposta. Entre os termos significativos encontrados no modelo da Equação 18, o menor valor da estatística para p foi $6,435 \times 10^{-7}$ sendo o termo linear da amostra de biodiesel contendo extrato de folhas de café e o maior valor encontrado, com p igual $6,726 \times 10^{-3}$, foi da mistura binária contendo extrato de folhas de café e de erva mate.

Assim como no modelo do período de indução, a Equação 19 descreve a taxa de reação de oxidação (k), os termos lineares foram os que mais contribuíram para o aumento da resposta. Entre as interações binárias estatisticamente significativas, a combinação entre os extratos de folhas de café e de polpa de jambolão foi a que apresentou maior contribuição para o aumento de k . No entanto, para esse modelo matemático, os termos menos significativos foram os mais desejáveis do ponto de vista da estabilidade oxidativa, uma vez que menores valores de k indicam menor taxa da reação de oxidação do biodiesel, refletindo maior estabilidade ao armazenamento.

Ambos os modelos foram estatisticamente significativos em nível de 5%, com valores de p iguais a $7,382 \times 10^{-4}$ para o modelo do período de indução e $1,177 \times 10^{-3}$ para o modelo da taxa de reação de oxidação. A falta de ajuste foi não significativa para ambos os modelos onde, para o período de indução (PI), o valor de p foi 0,132, enquanto para a taxa de reação de oxidação o valor de p foi 0,653, indicando que os modelos apresentam bom ajuste aos dados experimentais e podem ser utilizados com segurança para fins preditivos e de otimização.

A estabilidade oxidativa do biodiesel, quantificada pelo período de indução (PI), é um parâmetro essencial para estimar o tempo de armazenamento do combustível sem comprometimento de sua qualidade (Clemente *et al.*, 2023). Nesse contexto, a identificação da combinação ideal das variáveis independentes visa à maximização do PI, permitindo não apenas aumentar a vida útil do biodiesel, mas também avaliar a eficiência antioxidante dos extratos naturais empregados como aditivos.

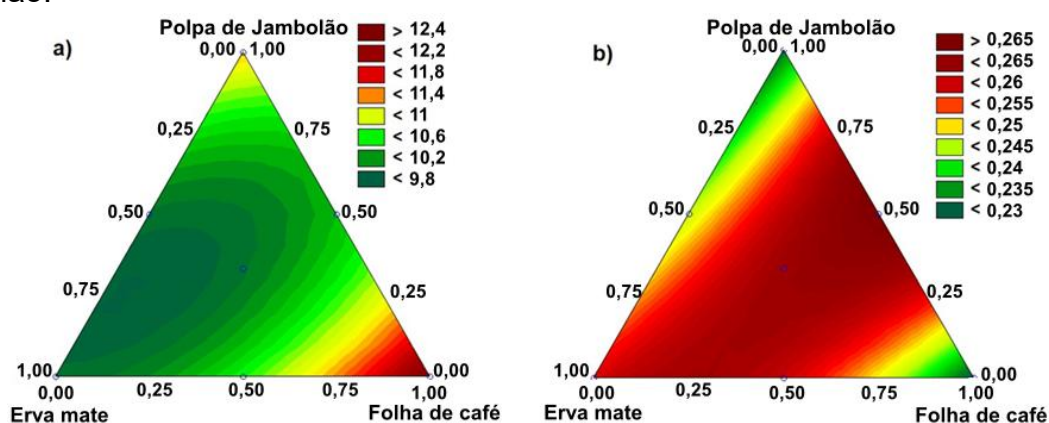
A taxa de reação de oxidação (k) representa a taxa com que o biodiesel sofre degradação oxidativa e assume um valor específico para cada ensaio realizado. Existe uma relação inversamente proporcional entre k e o período de indução (PI) pois, na maioria dos casos, quanto menor o valor de k , maior será o PI da amostra,

indicando maior estabilidade oxidativa. Portanto, para os objetivos deste estudo, a melhor resposta é aquela em que a variável dependente k apresenta o menor valor possível (Chendynski *et al.*, 2020; Correia *et al.*, 2020).

Na Figura 15, verifica-se que os maiores valores de período de indução (PI) estão concentrados nas regiões com predominância de extrato de folhas de café, representadas pelas áreas avermelhadas na superfície de resposta (Figura 15a), o que evidencia o elevado potencial antioxidante desse extrato. De forma complementar, a superfície de resposta da constante de taxa de reação de oxidação do biodiesel (k) (Figura 15b) apresenta seus menores valores, indicando maior estabilidade oxidativa nas regiões esverdeadas, que correspondem às formulações com maiores proporções de extrato de folhas de café ou de polpa de jambolão.

De maneira análoga, na Figura 15a, observa-se que o maior PI foi obtido com a aplicação exclusiva do extrato de folhas de café. Já na Figura 15b, os menores valores de k foram observados em amostras contendo teores mais elevados dos extratos de folha de café ou da polpa de jambolão. Esses resultados reforçam a eficácia desses aditivos naturais na atenuação da degradação oxidativa do biodiesel e indicam seu potencial para prolongar o tempo de armazenamento do biocombustível.

Figura 15. Superfície de resposta para os períodos de indução (a) e taxa de reação (b) das diferentes proporções de extratos de erva mate, folhas de café e polpa de jambolão.



Fonte: Própria autora.

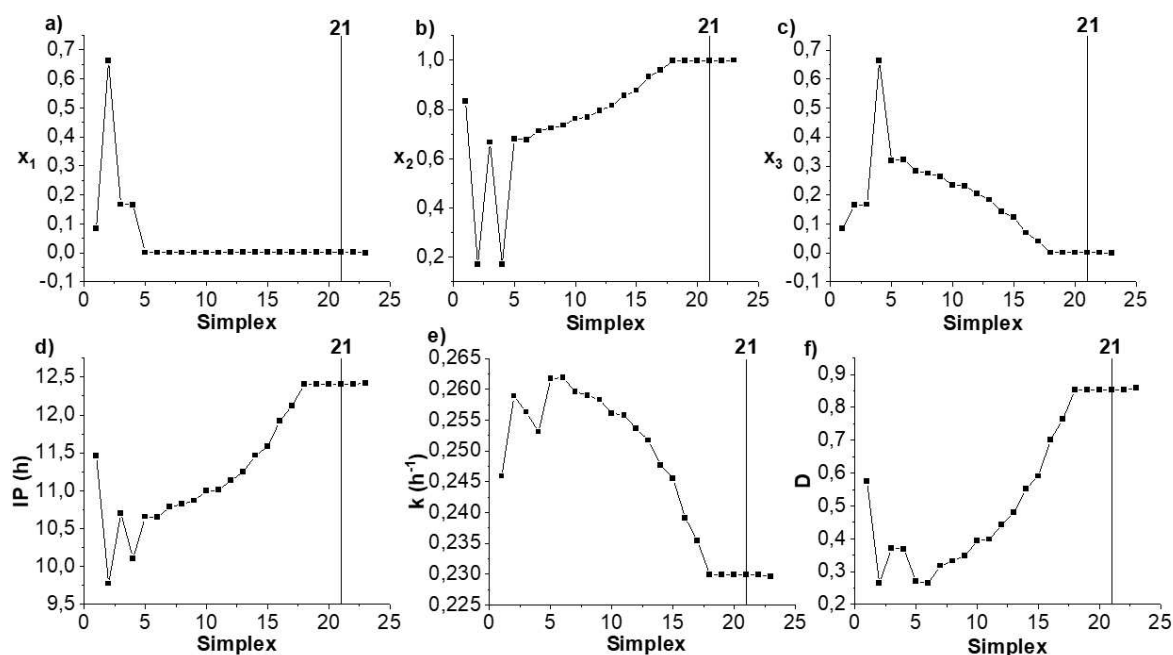
Para avaliar a contribuição sinérgica da adição combinada dos três extratos com propriedades antioxidantes, foi realizada a otimização de suas proporções com o objetivo de maximizar o período de indução (PI) e minimizar a taxa de reação de

oxidação (k). Visando este objetivo, foi empregado o método de otimização simplex supermodificado, amplamente utilizado por sua viabilidade de aplicação em processos automatizados. Esse método é particularmente eficiente em cenários onde os parâmetros da condição inicial são previamente definidos, permitindo que novas sequências experimentais sejam sugeridas de forma iterativa por meio de algoritmos, com base em critérios de desempenho previamente estabelecidos.

A Figura 16 apresenta os resultados da otimização das proporções dos extratos naturais utilizados: erva-mate (x_1) (Figura 16a), folhas de café (x_2) (Figura 16b) e polpa de jambolão (x_3) (Figura 16c). Também são ilustrados os efeitos sobre o período de indução (Figura 16d), a taxa de reação de oxidação do biodiesel (Figura 16e) e, por fim, a função de desejabilidade (Figura 16f). A convergência do processo de otimização foi alcançada após 21 iterações, momento em que os parâmetros experimentais se estabilizaram, por três vezes consecutivas a menos de 10^{-2} (critério de convergência), indicando uma solução ótima, para a combinação das respostas desejadas, com proporções dos extratos de $x_1 = 0,0017$, $x_2 = 0,9973$, $x_3 = 0,001$.

A Figura 16b demonstra que, no simplex 21, uma maior proporção de extrato de folhas de café resultou em maior estabilidade oxidativa do biodiesel, evidenciada pelo aumento do período de indução (PI) e pela redução da taxa de reação de oxidação (k). Conforme ilustrado na Figura 16d, o PI alcançado foi de 12,41 horas, enquanto a constante de velocidade de oxidação (k), apresentado na Figura 16e, foi de $0,2299 \text{ h}^{-1}$. Esses resultados indicam que o extrato de folhas de café apresenta desempenho superior na proteção oxidativa do biodiesel em comparação às demais combinações avaliadas.

Figura 16. Otimização simplex supermodificado dos parâmetros x_1 (a), x_2 (b), x_3 (c) das respostas PI e k e da função de desejabilidade D.



Fonte: Própria autora.

Devido à presença de compostos fenólicos com reconhecida atividade antioxidante, a adição dos extratos naturais de erva-mate, folhas de café e polpa de jambolão promoveram um aumento significativo no período de indução (PI) e uma redução na taxa de reação de oxidação (k) do biodiesel, quando comparado à amostra controle (B100).

As equações preditivas obtidas por meio do delineamento de misturas, associadas à aplicação do método de otimização do simplex supermodificado, acoplado às funções de desejabilidade, se apresentaram como ferramentas eficazes na determinação das proporções ideais dos extratos alcoólicos. Essa abordagem permitiu maximizar o período de indução (PI) e minimizar a taxa de reação de oxidação (k), evidenciando sua aplicabilidade na otimização da estabilidade oxidativa do biodiesel.

Dentre os extratos avaliados, o extrato alcoólico de folhas de café destacou-se por proporcionar ao biodiesel a maior estabilidade oxidativa, refletida nos maiores valores de período de indução (PI), além de apresentar a menor taxa de reação de oxidação (k) em comparação aos demais extratos testados. Esses resultados indicam seu elevado potencial antioxidante e sua eficácia na mitigação da degradação

oxidativa do biodiesel.

4.3 CONCLUSÃO

Todos os parâmetros de conformidade do biodiesel atenderam às especificações estabelecidas pela norma EN 14214, com exceção do período de indução (PI) em função da sua estabilidade oxidativa. De acordo com a legislação vigente, o PI deve ser igual ou superior a 8 horas para que o combustível esteja em conformidade.

Os compostos fenólicos presentes nos extratos naturais atuam como antioxidantes no biodiesel, o que reduz a taxa de reação oxidativa. A adição dos extratos alcoólicos de erva-mate, folhas de café e polpa de jambolão promoveu aumento significativo no período de indução (PI) e redução taxa de reação de oxidação (k) se comparado à amostra controle, evidenciando sua eficácia na melhoria da estabilidade oxidativa do biodiesel.

As equações preditivas obtidas por meio do delineamento de misturas, associadas ao método de otimização simplex supermodificado em conjunto com as funções de desejabilidade, mostraram-se ferramentas adequadas que permitiram a determinação da melhor proporção de extratos alcoólicos para obtenção de um maior PI e um menor k para a reação de oxidação do biodiesel. Dentre os extratos avaliados, o extrato alcoólico de folhas de café destacou-se por conferir maior estabilidade oxidativa ao combustível, evidenciando seu potencial antioxidante superior frente aos extratos alcoólico de erva-mate e polpa de jambolão.

O extrato alcoólico de folhas de café promoveu um aumento significativo na estabilidade oxidativa do biodiesel, resultando no maior valor de período de indução de 12,42 horas e na menor taxa de reação de oxidação (k) de $0,2296 \text{ h}^{-1}$, em comparação aos demais extratos avaliados. O biodiesel com extratos de erva-mate e de polpa de jambolão apresentou valores de PI de 9,95 e 11,25 horas, respectivamente, com taxas de reação de oxidação de $0,2573 \text{ h}^{-1}$ e $0,2310 \text{ h}^{-1}$. Dessa forma, considerando o período de indução e a taxa de reação de oxidação do biodiesel, o extrato alcoólico de folhas de café demonstrou ser o mais eficiente para a estabilidade oxidativa.

5. CAPÍTULO II: IMPACTO DOS EXTRATOS NATURAIS ANTIOXIDANTES EM RELAÇÃO AO PERÍODO DE INDUÇÃO E TAXA DE REAÇÃO DA OXIDAÇÃO DO BIODIESEL NA PRESENÇA DE ÍONS METÁLICOS.

RESUMO

Este estudo avaliou o potencial antioxidante dos extratos alcoólicos de erva-mate (*Ilex paraguariensis*), folhas de café (*Coffea arabica*) e polpa de jambolão (*Syzygium cumini* Lamarck) adicionados ao biodiesel, na presença e ausência dos íons metálicos de cromo (Cr^{3+}), manganês (Mn^{2+}) e cobalto (Co^{2+}). As respostas avaliadas foram o período de indução (PI) e a taxa de reação de oxidação (k) do biodiesel a 110 °C. A adição dos extratos naturais reduziu a taxa de oxidação e aumentou o PI em relação ao controle, evidenciando a atividade antioxidante do extrato natural. O extrato de folhas de café destacou-se por elevar o PI para 12,42 horas e reduzir a taxa de reação de oxidação em aproximadamente 6 vezes ($k = 0,2197 \text{ h}^{-1}$). A presença dos íons metálicos diminuiu o PI em todos os ensaios, sendo o extrato de erva-mate o mais afetado pelo íon Mn^{2+} , com redução de 41,61% no PI. O íon Cr^{3+} teve menor impacto na oxidação do biodiesel com extrato de folhas de café, aumentando k em apenas 3,55%. Na presença dos íons metálicos, o extrato alcoólico de polpa de jambolão apresentou melhor desempenho antioxidante comparado aos demais extratos. Os resultados demonstram a eficácia dos extratos naturais na melhora da estabilidade oxidativa do biodiesel, mesmo na presença de metais que aceleram sua degradação.

5.1 INTRODUÇÃO

Os combustíveis fósseis são recursos energéticos formados a partir da matéria orgânica que, ao longo de milhões de anos, foi depositada e submetida a altas pressões e temperaturas. Entre os combustíveis fósseis mais utilizados como fontes de energia destacam-se o carvão, o petróleo e o gás natural. Contudo, o uso excessivo desses recursos tem gerado importantes impactos ambientais, pois a queima desses combustíveis libera gases do efeito estufa, que contribuem para a poluição atmosférica e são responsáveis por intensas mudanças climáticas, incluindo o aumento da temperatura média global (Borsato *et al.*, 2009; Qi *et al.*, 2024; Peng *et al.*, 2024).

Em resposta a essas preocupações ambientais, cresce o interesse na transição para fontes de energia limpas e sustentáveis, tais como as energias renováveis solar,

eólica, hidrelétrica, além dos biocombustíveis. Paralelamente, há uma busca contínua pelo desenvolvimento de tecnologias mais eficientes e sistemas avançados de armazenamento de energia, que viabilizem uma matriz energética mais sustentável e resiliente (Sharmila; Shanmugavel; Banu, 2024; Prasad *et al.*, 2024; Cherwoo *et al.*, 2023).

Dentre as fontes de energia renováveis, o biodiesel tem se destacado. Biodiesel é um monoalquil éster de ácido graxo, produzido pela reação de transesterificação de óleos e gorduras vegetais e/ou animais com um álcool, geralmente metanol, utilizando uma base forte como catalisador. Embora o biodiesel apresente uma menor geração de energia em comparação ao diesel derivado do petróleo, ele se sobressai em diversos aspectos, como maior lubrificidade, desempenho equivalente em potência e torque, contribuição para a preservação das partes móveis do motor e maior eficiência na queima. Além disso, destaca-se por sua capacidade fundamental de reduzir a emissão de compostos aromáticos e óxidos de enxofre na atmosfera (Borsato *et al.*, 2014; Dogan *et al.*, 2023; Nirmala *et al.*, 2023).

Diversas matérias-primas podem ser empregadas na produção de biodiesel, entre as quais se destacam os óleos vegetais de soja (Spacino *et al.*, 2015), girassol (Sousa; Ribeiro, 2012), as gorduras de origem animal (Rêgo *et al.*, 2020), gordura vegetal como a de palma (Sousa; Ribeiro, 2012) e os óleos provenientes de frituras (Coelho *et al.*, 2020).

Toda fonte oleaginosa pode ser utilizada para a produção de ésteres alquílicos; entretanto, nem todo óleo ou gordura é recomendado para a obtenção de um biodiesel comercial que atenda às regulamentações governamentais. Um fator determinante na escolha da matéria-prima é a quantidade de óleo extraível, pois fontes que armazenam maiores volumes de óleo são preferidas pela indústria do biodiesel, contribuindo para a redução dos custos de produção. Além disso, devido à composição dos ácidos graxos presentes na matéria-prima, características indesejáveis podem ser incorporadas ao biodiesel, sobretudo relacionadas às insaturações dos ácidos graxos presentes nos óleos vegetais e gorduras (Maia *et al.*, 2011; Cherwoo *et al.*, 2023).

Devido à presença de ésteres provenientes de ácidos graxos com duplas ligações na cadeia carbônica, a estabilidade oxidativa do biodiesel é comprometida, especialmente quando exposto a fatores como luz, altas temperaturas, umidade e íons de metais de transição (Sousa; Ribeiro, 2012; Kimura *et al.*, 2019). De acordo com

Chendynski *et al.*, 2020, a oxidação do biocombustível não depende apenas da quantidade de insaturações na cadeia carbônica, mas também da sua localização estrutural. Por exemplo, sítios bis-alílicos são mais suscetíveis à formação de radicais livres que, na presença de oxigênio, promovem a geração de peróxidos. Esse aspecto é fundamental para entender a instabilidade dos sítios bis-alílicos (Sousa; Ribeiro, 2012; Barbola *et al.*, 2020). Além disso, a presença de metais de transição em sistemas não aquosos potencializa a formação de peróxidos e novos radicais livres, acelerando o processo de oxidação do biodiesel (Chendynski *et al.*, 2020; Mantovani *et al.*, 2020; Tajima *et al.*, 2021).

Como consequência da oxidação do biodiesel na presença de oxigênio, catalisada por fatores como exposição à luz, temperatura elevada, íons metálicos, umidade ou contaminação microbiana, ocorrem impactos técnicos e econômicos significativos. Entre eles, destacam-se a corrosão de componentes do motor, a formação de depósitos e a possível inviabilização do sistema de injeção do veículo (Freitas *et al.*, 2019). Além dos prejuízos à qualidade do biodiesel, a degradação oxidativa promove alterações nas propriedades físico-químicas do combustível, tanto durante o uso quanto no armazenamento (Sundus; Masjuki; Fazal, 2017; Fazal; Haseeb; Masjuki, 2014). Propriedades como densidade, ponto de fulgor, estabilidade à oxidação, índice de cetano, índice de iodo, viscosidade cinemática, índice de peróxido e acidez podem ser significativamente modificadas, comprometendo o desempenho do biodiesel (Kumar, 2017; Rahman *et al.*, 2021).

Para a comercialização do biodiesel, a adição de antioxidantes é uma prática comum para aumentar o período de indução (PI), retardar a degradabilidade do combustível e prolongar seu tempo de armazenamento (Dunn, 2005; Medeiros *et al.*, 2014). O uso de antioxidantes sintéticos, como butil-hidroxianisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), terc-butil-hidroquinona (TBHQ), entre outros, tem sido uma das estratégias mais eficazes para controlar o processo de oxidação do biodiesel (Coppo *et al.*, 2014; Kimura *et al.*, 2019).

Entretanto, extratos naturais com propriedades antioxidantes têm ganhado destaque devido à ampla diversidade de fontes, renovabilidade, facilidade de obtenção e baixo custo em comparação aos antioxidantes sintéticos, configurando-se como uma alternativa promissora para retardar a oxidação do biocombustível (De Souza *et al.*, 2020; Maia *et al.*, 2011). Coppo *et al.* (2014) demonstraram que uma mistura contendo 25% de extrato etanólico de alecrim e 75% de extrato etanólico de

orégano foi mais eficaz do que o uso isolado de cada um desses extratos para retardar a oxidação do biodiesel produzido a partir de óleo de soja. Gregório *et al.* (2018) evidenciaram aumento na energia de ativação necessária para a oxidação do biodiesel na presença de extratos alcoólicos de sálvia e folhas de café, isolados ou em mistura. Romagnoli *et al.*, (2018) investigaram a influência dos extratos de folhas de senna, amora-preta e flores de hibisco na reação de oxidação do biodiesel comercial. Chendynski *et al.* (2020) avaliaram e aplicaram extratos alcoólicos de folhas de alecrim, polpa de araçá e casca de bacuri na inibição da oxidação do biodiesel. Clemente *et al.* (2023), por meio de modelagem matemática, estimaram o tempo de armazenamento do biodiesel à temperatura ambiente em mistura com extratos alcoólicos de cascas de jaboticaba, folhas de gabioba e flores de hibisco, na ausência e presença dos íons cobre e ferro, demonstrando que os extratos naturais constituem uma alternativa viável aos antioxidantes sintéticos para retardar a oxidação e aumentar a vida útil do biodiesel.

O presente trabalho avaliou o potencial antioxidante dos extratos alcoólicos de folhas de café (*Coffea arabica*), erva-mate (*Ilex paraguariensis*) e polpa de jambolão (*Syzygium cumini*) quando adicionados ao biodiesel, tanto na ausência quanto na presença dos íons metálicos de cromo (Cr^{3+}), manganês (Mn^{2+}) e cobalto (Co^{2+}).

5.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO.

O biodiesel utilizado neste estudo foi obtido por meio da reação de transesterificação de uma mistura equimolar de óleos vegetais de soja e palma, empregando metanol como agente alquilante e hidróxido de potássio como catalisador. A caracterização do produto por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) revelou que sua composição é predominantemente constituída por ésteres metílicos de ácidos graxos, com cadeias carbônicas variando de C16 a C22 (Tabela 1). A análise quantitativa indicou que os ésteres metílicos saturados corresponderam a 33,86% *m/m* da amostra, enquanto os insaturados totalizaram 62,99% *m/m*.

Além disso, o biodiesel analisado apresentou valor médio de ponto de fulgor de 176,7 °C, enquanto o biodiesel aditivado com extrato natural apresentou valor médio de 185,7 °C. A aplicação do teste estatístico de Tukey, ao nível de significância de 5%, não indicou diferença estatisticamente significativa entre as médias obtidas,

sugerindo que a adição do extrato não exerceu influência relevante sobre este parâmetro físico-químico.

O biodiesel produzido apresentou massa específica a 20 °C de 874,2 kg.m⁻³, índice de acidez de 0,059 ± 0,017 mg.KOH.g⁻¹, ponto de névoa de 10 °C, ponto de fluidez de 5 °C, teor de água de 182,3 mg.kg⁻¹, viscosidade cinemática de 4,31 mm².s⁻¹ e índice de iodo de 97,23 g.I₂.100 g⁻¹. Todos os parâmetros físico-químicos avaliados atenderam aos critérios de conformidade estabelecidos para o biodiesel B100, conforme os limites estipulados pela Resolução ANP nº 920 (BRASIL, 2023).

Os extratos alcoólicos obtidos das folhas de café, polpa de jambolão e erva-mate foram submetidos à análise do teor de compostos fenólicos totais pelo método de Folin-Ciocalteu. Os resultados, expressos em mg de equivalentes de ácido gálico por grama de massa seca (mg.EAG.g⁻¹) indicaram os seguintes valores: 21,99 mg.EAG.g⁻¹ para o extrato de folhas de café, 11,68 mg.EAG.g⁻¹ para o extrato de polpa de jambolão e 25,03 mg.EAG.g⁻¹ para o extrato de erva-mate.

Comparativamente, Frizon *et al.* (2015) avaliaram 111 amostras de erva-mate provenientes de diferentes regiões do estado do Paraná/Brasil e observaram variações no teor de fenóis totais entre 23,07 e 168,50 mg.g⁻¹, também utilizando o método de Folin-Ciocalteu. Gregório *et al.* (2018), ao estudarem o efeito do extrato alcoólico de folhas de café nos parâmetros termodinâmicos e no período de indução do biodiesel de óleo de soja, relataram teor inferior ao obtido no presente trabalho, com 12,47 mg.EAG.g⁻¹ de massa seca.

Em relação à polpa de jambolão, Brandão *et al.* (2011) reportaram teores de fenóis totais variando entre 208,30 e 338,89 mg.100.g⁻¹ em amostras *in natura*, com maior concentração no estágio verde de maturação, enquanto taninos predominaram nas fases verde/roxa. Tais variações evidenciam a influência do tipo de amostra, grau de maturação e método de extração nos teores fenólicos obtidos.

Os cromatogramas obtidos por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector por arranjo de diodos (HPLC-PDA) foram utilizados para uma análise qualitativa das classes de compostos químicos presentes nos extratos etanólicos de erva-mate, folhas de café e polpa de jambolão (Figuras 17 a 19). A identificação dos compostos foi realizada com base nos espectros de absorção molecular, permitindo a sugestão da presença de ácidos fenólicos, flavonoides e

ácidos orgânicos.

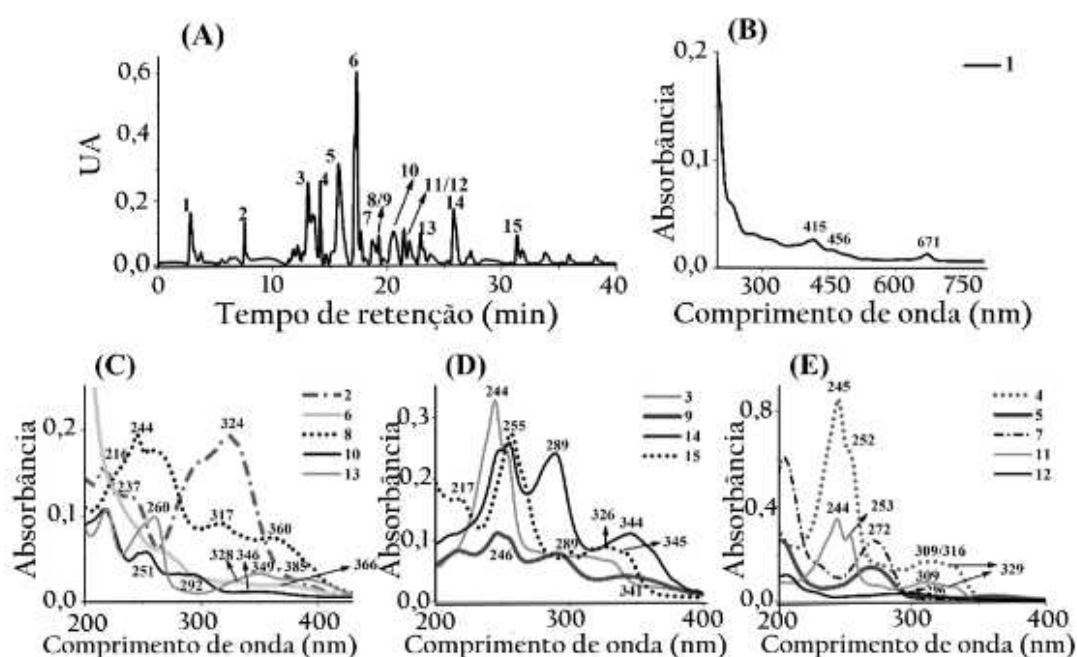
A análise espectral foi conduzida na faixa de 190 a 800 nm, abrangendo os comprimentos de onda característicos das diferentes classes de compostos e possibilitando a correlação com os picos cromatográficos obtidos durante a separação dos constituintes. Essa abordagem contribui para o reconhecimento dos perfis espectrais típicos e para uma avaliação preliminar da composição fitoquímica dos extratos avaliados.

O extrato etanólico de erva-mate apresentou quinze picos cromatográficos principais, conforme ilustrado na Figura 17a. A presença de clorofila ou de seus produtos de degradação foi identificada com base no pico 1, que exibiu absorção característica na região do visível, em 670 nm, compatível com pigmentos fotossintéticos (Lichtenthaler; Buschmann, 2001). O pico 2 (Figura 17a), com bandas de absorção em 296 e 323 nm, sugere a presença de compostos da classe dos ácidos clorogênicos, como os ácidos cafeoilquínico ou cafeico (Haminiuk *et al.*, 2012; Tatarczak-Michalewska; Flieger, 2022).

Os picos 3, 8, 9, 10, 13 e 14 (Figuras 17c e 17d) apresentaram espectros com duas bandas características, sendo banda I (300–380 nm) e banda II (240–295 nm), típicas de flavonoides (Taniguchi *et al.*, 2023). Os picos 4, 11, 12 e 15 (Figuras 17d e 17e) apresentaram padrões espectrais atribuíveis a ácidos monoidroxibenzóicos (Singh *et al.*, 2007; Cheung *et al.*, 2019; Oiram-Filho *et al.*, 2018). Os picos 5 e 7 (Figura 17e), com absorção em 272 nm, indicam a presença das metilxantinas teobromina e cafeína.

Adicionalmente, a análise por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS), operando no modo positivo $[M + H]^+$, revelou a presença de rutina ($m/z = 610$), bem como pigmentos derivados da clorofila, tais como ficocianina ($m/z = 612$), ficoeritrina ($m/z = 593$) e ficocianobilina ($m/z = 541$), conforme descrito por Pauli *et al.* (2019).

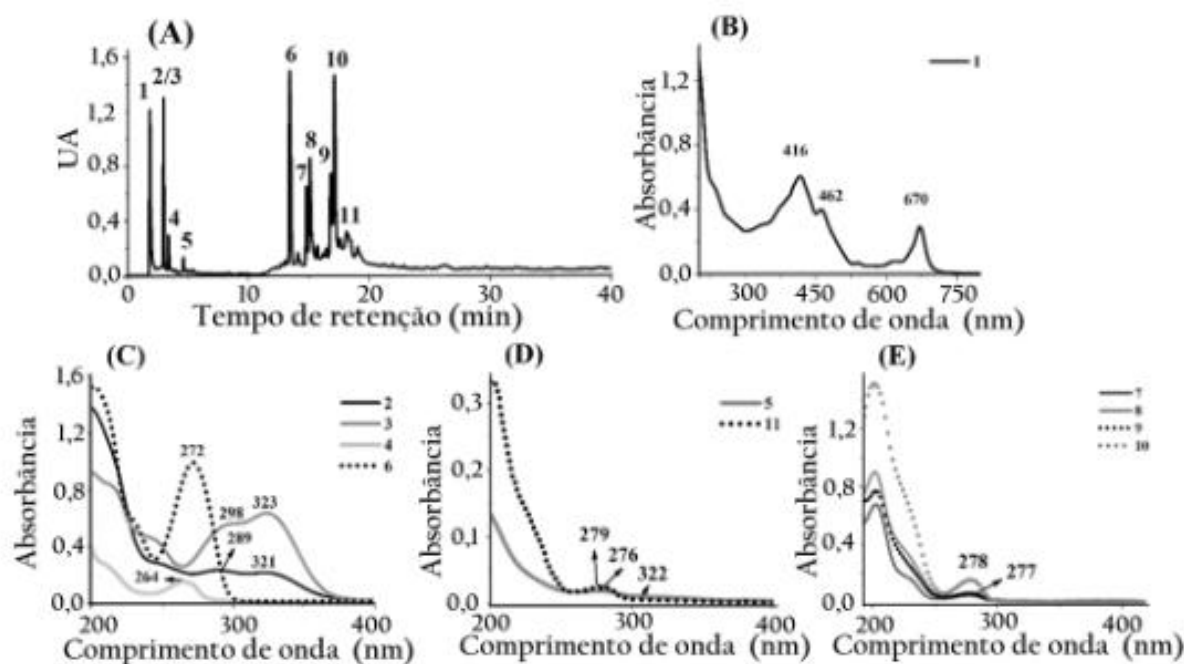
Figura 17. Cromatogramas de HPLC-PDA correspondentes ao extrato etanólico de erva-mate e seus respectivos espectros de PDA dos picos principais.



Fonte: Própria autora.

A análise do extrato etanólico das folhas de café revelou a presença de 11 picos cromatográficos principais (Figura 18a). O primeiro pico é atribuído à clorofila α , cuja absorção ocorre na região do visível, em 670 nm, conforme descrito por Lichtenthaler e Buschmann (2001). Os picos 2 e 3 (Figura 18b) correspondem à classe dos ácidos clorogênicos, especialmente ao ácido cafeico, um ácido fenólico frequentemente identificado em extratos de folhas de café (Pauli *et al.*, 2019), com bandas de absorção características em 298 e 328 nm (Campa *et al.*, 2012). Trigonelina e cafeína, dois alcaloides majoritários presentes nas folhas, apresentam absorções típicas em torno de 264 e 272 nm, respectivamente, e são possivelmente representados pelos picos 4 e 6 (Figura 18c) (Yisak *et al.*, 2018; CHEN, 2019). O pico 5, com bandas em 276 e 322 nm, sugere a presença de um flavonoide, classe de metabólitos secundários comuns nas folhas de café (Figura 18d). Já os picos de 7 a 11 (Figuras 18d e 18e) exibem perfis espectrais compatíveis com flavonoides, como catequinas, também relatadas nessa matriz vegetal (Tritsch *et al.*, 2022). A espectrometria de massas (LC/MS) no modo positivo $[M + H]^+$ confirmou a presença de ácido cafeoilquínico (m/z 354), ácido feruloilquínico (m/z 368), epigalocatequina (m/z 306), além de produtos de degradação da clorofila, como ficocianina (m/z 612) e ficoeritrina (m/z 593).

Figura 18. Cromatogramas de HPLC-PDA correspondentes ao extrato etanólico de folhas de café e seus respectivos espectros de PDA dos picos principais.

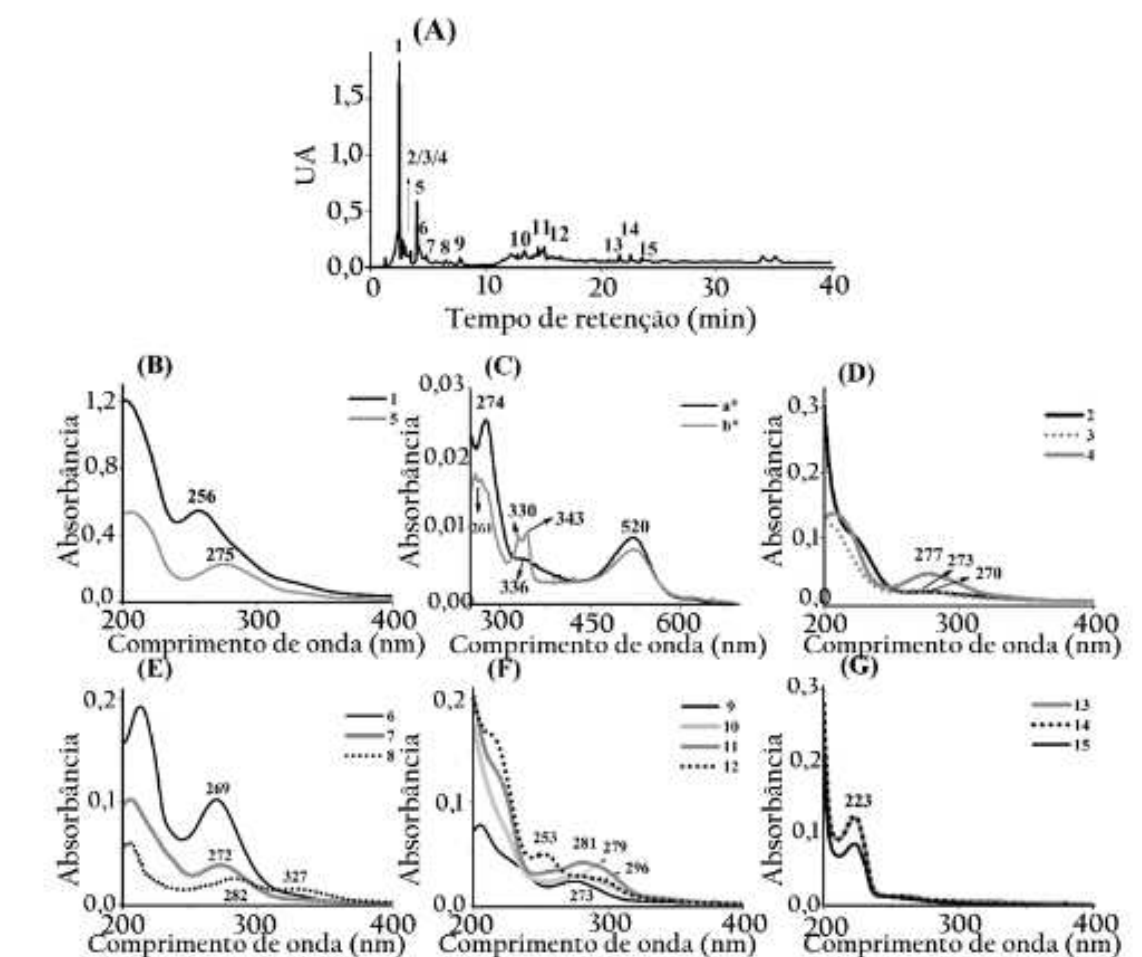


Fonte: Própria autora.

A análise cromatográfica do extrato alcoólico da polpa de jambolão revelou 15 picos principais (Figura 19a). O pico 1, com banda de absorção em 256 nm (Figura 19b), sugere a presença de ácidos fenólicos simples, como ácido hidroxibenzoico ou ácido vanílico, possivelmente derivados da degradação de antocianinas (Sadilova *et al.*, 2006). A presença residual de antocianinas é indicada pelos espectros UV-VIS (Figura 19c), que exibem um padrão de absorção característico com dois grupos principais: o primeiro entre 260 a 280 nm e o segundo entre 490 a 550 nm. Além disso, um pico adicional entre 310 a 340 nm pode ocorrer caso as antocianinas estejam aciladas com açúcares (Saha *et al.*, 2020). Os picos 2 a 4 (Figura 19d), bem como os picos 7 (Figura 19e), 9 e 10 (Figura 19f), apresentam perfis espectrais entre 250 e 350 nm compatíveis com flavonóides, como as proantocianidinas, metabólitos presentes no jambolão. O pico 5 (Figura 19b), com absorção em 275 nm, é indicada a presença de ácido sirínico, também relacionado à degradação de antocianinas (Yang *et al.*, 2018). O pico 6 (Figura 19e) sugere a presença de ácido gálico, composto presente no jambolão, gerado durante a degradação térmica de antocianinas (Caldas *et al.*, 2018; Nguang *et al.*, 2017; Brown; Kelly, 2007; Cheung *et al.*, 2019). O espectro do pico 8 (Figura 19e) é compatível com uma subclasse específica de flavonoides, enquanto o pico 4 (Figura 19d), com absorção em 277 nm, indica catequina e epicatequina

(Caldas *et al.*, 2018). O pico 11 (Figura 19e) pode estar relacionado a flavanóis, como o tirosol (Santos *et al.*, 2022), e o pico 12 (Figura 19e) a ácidos fenólicos como o protocatecuico ou vanílico, também derivados da degradação de antocianinas (Robbins, 2003). Por fim, os picos 13 a 15 (Figura 19g), com bandas em torno de 220 nm, sugerem a presença de ácidos orgânicos de baixo peso molecular (Pereira *et al.*, 2010; Han *et al.*, 2019). A análise por UPLC/MS no modo positivo $[M + H]^+$ confirmou a presença de diversos compostos bioativos, incluindo epicatequina/catequina ($m/z = 290$), ácido cafeoilquínico ($m/z = 354$), ácido clorogênico ($m/z = 368$), proantocianidina ($m/z = 578$) e antocianinas nas formas de cianidina ($m/z = 449$), malvidina ($m/z = 493$) e peonidina ($m/z = 463$).

Figura 19. Cromatogramas de HPLC-PDA correspondentes ao extrato etanólico de polpa de jambolão e seus respectivos espectros de PDA dos picos principais.



Fonte: Própria autora.

As amostras de biodiesel contendo os íons metálicos Cr^{3+} , Mn^{2+} e Co^{2+} , na concentração de $2,49 \times 10^{-5}$ mol de cátion por 100 g de biodiesel, foram submetidas

ao ensaio de estabilidade oxidativa a 110 °C. Os testes foram realizados tanto na ausência quanto na presença de extratos naturais, adicionados na concentração de 42,8 mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por amostra, e sem a adição de álcool. Uma amostra controle, sem adição de íons ou extratos, também foi avaliada. Os parâmetros determinados foram o período de indução e a taxa de reação da oxidação do biodiesel, com o objetivo de investigar o efeito dos íons metálicos e dos extratos naturais sobre a estabilidade oxidativa do combustível.

A Tabela 5 apresenta os valores dos períodos de indução (PI), das taxas de reação da oxidação do biodiesel (k) e os respectivos coeficientes de determinação (R^2), obtidos por meio do ajuste dos dados do ln da condutividade elétrica *versus* tempo. As análises foram realizadas para a amostra controle e para amostras contendo os íons metálicos Co^{2+} , Mn^{2+} e Cr^{3+} , na ausência e presença dos extratos alcoólicos de erva-mate, folhas de café e polpa de jambolão. Os coeficientes de determinação variaram de $0,9430 \leq R^2 \leq 0,9942$ para todos os ensaios, com 75% dos resultados apresentando valores superiores a 0,98. Isso indica, segundo Clemente *et al.* (2023), que a escolha do modelo de reação de primeira ordem foi adequada para determinar a taxa de reação de oxidação (k).

Tabela 5. Períodos de indução (PI), taxa de reação de oxidação (k) e R^2 da reação de oxidação do biodiesel na presença e ausência de antioxidantes e íons metálicos.

Ensaio	PI (h)	k (h^{-1})	R^2
Controle (biodiesel)	2,350 \pm 0,017	1,2976 \pm 1,40x10 ⁻³	0,9923
Biodiesel + Co^{2+}	1,620 \pm 0,017	1,6553 \pm 9,54x10 ⁻⁴	0,9430
Biodiesel + Cr^{3+}	1,900 \pm 0,020	1,4152 \pm 1,21x10 ⁻³	0,9387
Biodiesel + Mn^{2+}	1,860 \pm 0,017	1,4129 \pm 1,05x10 ⁻³	0,9942
Erva-Mate			
Biodiesel + Extrato	9,950 \pm 0,118	0,2474 \pm 4,57x10 ⁻⁴	0,99
Biodiesel+Extrato+ Co^{2+}	6,270 \pm 0,060	0,3952 \pm 1,35x10 ⁻³	0,9927
Biodiesel+Extrato+ Cr^{3+}	8,300 \pm 0,110	0,3149 \pm 1,01x10 ⁻³	0,9937
Biodiesel+Extrato+ Mn^{2+}	5,810 \pm 0,050	0,4548 \pm 8,54x10 ⁻⁴	0,9624
Folha de Café			
Biodiesel + Extrato	12,42 \pm 0,06	0,2197 \pm 2,01x10 ⁻³	0,9952
Biodiesel+Extrato+ Co^{2+}	7,680 \pm 0,11	0,3068 \pm 1,58x10 ⁻³	0,9849
Biodiesel+Extrato+ Cr^{3+}	11,93 \pm 0,10	0,2275 \pm 1,06x10 ⁻³	0,9948
Biodiesel+Extrato+ Mn^{2+}	8,610 \pm 0,11	0,2795 \pm 1,17x10 ⁻³	0,9519
Polpa de Jambolão			
Biodiesel + Extrato	11,25 \pm 0,03	0,2311 \pm 5,57x10 ⁻⁴	0,9832
Biodiesel+Extrato+ Co^{2+}	10,73 \pm 0,06	0,2413 \pm 1,31x10 ⁻³	0,9844
Biodiesel+Extrato+ Cr^{3+}	10,47 \pm 0,03	0,2611 \pm 1,08x10 ⁻³	0,9948
Biodiesel+Extrato+ Mn^{2+}	10,88 \pm 0,06	0,2436 \pm 6,08x10 ⁻⁴	0,9942

Fonte: Própria autora.

De acordo com a Tabela 5, o biodiesel B100 apresentou um período de indução (PI) de 2,35 horas e uma taxa de reação (k) de 1,2976 h^{-1} , valores que evidenciam a

necessidade de adição de antioxidantes para atender aos requisitos da norma EN 14214, que estabelece um PI mínimo de 8 horas. Segundo Akbarirad *et al.* (2016), antioxidantes naturais podem ser encontrados em diversas fontes vegetais, como plantas, frutas, sementes, folhas, farinhas de raízes e cascas, pois apresentam compostos como flavonoides, ácidos fenólicos, antocianinas, carotenoides, ácidos orgânicos, quinonas e pigmentos em suas estruturas com um ou mais anéis aromáticos e grupos hidroxila, apresentando potencial para atuar como antioxidantes no biodiesel. Quando adicionados, esses compostos os extratos naturais podem reduzir a taxa de oxidação do biodiesel (k), aumentar o período de indução (PI) e, conseqüentemente, prolongar o tempo de armazenamento do combustível (Clemente *et al.*, 2023; Ntourtoglou *et al.*, 2022; Correia *et al.*, 2020; Gulcin, 2020; Haminiuk *et al.*, 2012; Dai; Mumper, 2010; Ozcan *et al.*, 2014).

A adição dos extratos alcoólicos de erva-mate, folhas de café e polpa de jambolão ao biodiesel resultou em um aumento significativo no período de indução (PI) que aumentou o período de indução do B100 de 2,35 horas para 9,95 h, 12,42 h e 11,25 h, respectivamente. Todos esses valores superaram o limite mínimo de 8 horas estabelecido pela norma EN 14214, indicando melhora na estabilidade oxidativa. Paralelamente, observou-se uma redução nas taxas de reação de oxidação (k), que reduziram de $1,2976 \text{ h}^{-1}$ para $0,2474 \text{ h}^{-1}$ com extrato natural de erva-mate, $0,2197 \text{ h}^{-1}$ na presença do extrato natural de folhas de café e $0,2311 \text{ h}^{-1}$ no extrato de polpa de jambolão, evidenciando a eficácia antioxidante dos extratos estudados no presente trabalho. A análise estatística pelo teste de Tukey revelou diferenças significativas nos valores médios de PI e k entre os grupos tratados com extratos, com valores de p variando de $2,3 \times 10^{-4} \leq p_{\text{valor}} \leq 1,26 \times 10^{-3}$ para o PI e de $2,57 \times 10^{-4} \leq p_{\text{valor}} \leq 7,37 \times 10^{-3}$ para k , confirmando a relevância estatística dos efeitos observados.

Na presença dos íons metálicos de cobalto (Co^{2+}), manganês (Mn^{2+}) e cromo (Cr^{3+}), observou-se uma redução no período de indução (PI) do biodiesel, sendo o íon cobalto o que mais intensificou essa redução, acompanhado do aumento na taxa de reação de oxidação (k). Isso ocorre porque quantidades mínimas desses catalisadores são suficientes para acelerar a reação de oxidação, pois esta reação é catalisada por contaminantes presentes no meio (Schaich, 2005). Diante do exposto, os íons metálicos de transição são conhecidos como catalisadores do processo oxidativo e podem estar presentes no biodiesel em diferentes concentrações, contribuindo para o aumento da taxa de reação oxidativa do biocombustível.

A contaminação do biodiesel por íons metálicos pode ocorrer através do contato direto com as superfícies dos tanques, durante o armazenamento e transporte, assim como pela presença de sedimentos resultantes de processos oxidativos acumulados nos diversos equipamentos utilizados em sua produção, como reatores e trocadores de calor. Íons de metais de transição, tais como cobalto, ferro, cobre, manganês, cromo e vanádio, mesmo em pequenas concentrações, são capazes de catalisar as reações de oxidação do biocombustível (Sui *et al.*, 2021; Zuleta *et al.*, 2012; Varatharajan; Pushparani, 2018; Spacino *et al.*, 2015; Chendynski *et al.*, 2020).

Segundo Schaich (2005), os mecanismos e as taxas de reação de oxidação são catalisadas por íons metálicos, sendo influenciadas por uma combinação complexa de fatores, incluindo o tipo de metal e os complexos que ele forma, seja de esfera interna ou externa, a presença de agentes quelantes ou complexantes, o potencial redox do metal e de seus complexos, as características do solvente, além da disponibilidade de oxigênio ou hidroperóxidos pré-existentes. O autor ainda destaca que a iniciação catalisada por metais em estados de valência mais baixos ocorre principalmente pela formação de complexos ativados com O_2 e intermediários com hidroperóxidos. Esse processo é favorecido em solventes apolares e depende da pressão parcial de oxigênio presente no sistema.

As transferências eletrônicas do íon Co^{2+} (d^7) em solventes apolares ocorrem predominantemente por mecanismos de esfera interna (Schaich, 2005), os quais são mais lentos que os mecanismos de esfera externa observados para íons ferro. A alta densidade eletrônica do Co^{2+} é justificada pelo enfraquecimento da dupla ligação da olefina por meio da complexação metal-olefina com retrodoação eletrônica. Entretanto, diferentemente do cobre, o cobalto não é reduzido a Co^{1+} , onde a geração de radicais livres depende não apenas da formação do complexo ativado entre Co^{2+} e o oxigênio, mas também é facilitada pela insaturação da olefina. Além disso, é importante destacar que outros fatores podem influenciar o comportamento catalítico do cobalto, pois, ao apresentar configuração d^7 , o complexo formado com olefina, ligante de campo forte, pode assumir geometria quadrado planar, pode impactar significativamente em seu mecanismo de ação catalítica (Spacino *et al.*, 2022).

No caso do Mn^{2+} , é importante considerar seu estado de simetria relacionado ao preenchimento dos orbitais d , que confere maior estabilidade aos seus complexos, tornando-os menos lábeis e com menor tendência a reagir por complexação com

olefinas. Sua configuração eletrônica (d^5) desfavorece a formação de complexos com insaturações devido ao caráter mais lábil, não apresentando densidade eletrônica suficiente para estabilização por retrodoação. Portanto, a iniciação das reações radicalares catalisadas pelo Mn^{2+} ocorre de forma indireta, por meio da formação de complexos intermediários com O_2 .

O íon Cr^{3+} (d^3) foi o mais inerte entre os metais estudados. Seus três elétrons estão estabilizados, o que reduz seu potencial redox e torna as transferências eletrônicas muito mais lentas. Além disso, o Cr^{3+} não possui densidade eletrônica nem estado de valência baixos que favoreçam a complexação com a dupla ligação da olefina, nem a consequente quebra da ligação π do substrato.

Para evitar o processo oxidativo do biodiesel, mesmo na presença de íons de metais de transição e prolongar seu tempo de armazenamento sem comprometer suas propriedades, é fundamental a adição de antioxidantes imediatamente após sua produção. Esses compostos podem ser classificados de acordo com seu mecanismo de ação: antioxidantes primários, que neutralizam radicais livres por meio da doação de átomos de hidrogênio e/ou antioxidantes secundários, que não estabilizam diretamente os radicais livres, mas atuam de forma preventiva ao inibir a ação catalítica dos íons metálicos, principalmente por meio da formação de complexos estáveis e insolúveis. O uso de desativadores metálicos, reduz a atividade pró-oxidante desses íons ao aumentar a energia de ativação necessária para a iniciação da reação de oxidação (Wanasundara; Shahidi, 2005).

Alguns extratos alcoólicos de origem vegetal são ricos em compostos fenólicos e em um amplo espectro de metabólitos secundários, sendo os ácidos fenólicos, flavonoides e derivados polifenólicos. Além desses, dependendo da composição específica do extrato, podem estar presentes ácidos orgânicos como cítrico, málico, succínico e tartárico, os quais atuam como agentes quelantes de íons metálicos, contribuindo para a inibição da oxidação. Outros compostos frequentemente encontrados incluem antocianinas e carotenoides, como β -caroteno, licopeno, zeaxantina e luteína, que apresentam atividade antioxidante por meio da eliminação do oxigênio singleto (1O_2) e da neutralização de radicais livres. Dessa forma, tais compostos contribuem significativamente para a prevenção da propagação das reações oxidativas no biodiesel (Wanasundara; Shahidi, 2005; Rodriguez-Amaya, 2015).

A adição do extrato alcoólico de erva-mate ao biodiesel resultou em um

aumento do período de indução (PI) para 9,95 h e uma redução da taxa de reação de oxidação (k) para 0,2474 h⁻¹. No entanto, na presença dos íons metálicos, os cátions de cobalto e manganês exerceram maior influência na reação de oxidação, promovendo uma redução no PI. Especificamente, o íon cobalto reduziu o PI para 6,27 h, uma queda de 36,98%, e aumentou a taxa de reação para 0,3952 h⁻¹, um acréscimo de 59,68%. Já o íon manganês diminuiu o PI para 5,81 h, uma redução de 41,61%, e elevou a taxa de reação para 0,4548 h⁻¹, correspondendo a um aumento de 83,79% (Tabela 6). Contudo, na presença do extrato de erva-mate, não foi observada diferença estatisticamente significativa no PI entre os efeitos desses dois íons, considerando um nível de significância de 5%.

Tabela 6. Consolidação da interação dos íons metálicos no B100 com adição de extrato natural de erva-mate.

Condição	PI (h)	Varição do PI (%)	k (h ⁻¹)	Varição de k (%)
Biodiesel + Extrato de Erva-mate	9,95	—	0,2474	—
Biodiesel + Extrato + Cobalto (Co ²⁺)	6,27	-36,98%	0,3952	+59,68%
Biodiesel + Extrato + Cromo (Cr ³⁺)	8,30	-16,58%	0,3149	+27,29%
Biodiesel + Extrato + Manganês (Mn ²⁺)	5,81	-41,61%	0,4548	+83,79%

Fonte: Própria autora.

O extrato alcoólico de folhas de café (Tabela 7), o mais eficaz entre os extratos naturais testados, aumentou o período de indução (PI) do biodiesel para 12,42 h e reduziu a taxa de reação de oxidação (k) para 0,2197 h⁻¹. Contudo, na mistura contendo esse extrato, os íons de manganês e cobalto foram os que mais influenciaram o PI e a taxa de reação de oxidação. O íon manganês diminuiu o PI para 8,61 h, uma redução de 30,67 %, e elevou a taxa de reação para 0,2795 h⁻¹, um aumento de 27,22 %. De forma semelhante, o íon cobalto reduziu o PI para 7,68 h, redução de 38,16 %, e aumentou k para 0,3068 h⁻¹, um acréscimo de 39,64 % na taxa de oxidação do biodiesel. As diferenças nos valores de PI e k, na presença do extrato de folhas de café com Co²⁺ ou Mn²⁺, foram estatisticamente significativas, com p-valores variando entre $2,31 \times 10^{-4} \leq p_{\text{valor}} \leq 1,28 \times 10^{-3}$.

Tabela 7. Consolidação da interação dos íons metálicos no B100 com adição de extrato natural de folhas de café.

Condição	PI (h)	Variação do PI (%)	k (h ⁻¹)	Variação do k (%)	Observação Estatística
Biodiesel + Extrato Folhas de Café	12,42	—	0,2197	—	Referência (sem íons metálicos)
Biodiesel + Íon Manganês (Mn ²⁺)	8,61	-30,67%	0,2795	+27,22%	Redução significativa do PI e aumento de k
Biodiesel + Íon Cobalto (Co ²⁺)	7,68	-38,16%	0,3068	+39,64%	Maior impacto na oxidação do biodiesel

Fonte: Própria autora.

Ao analisar o período de indução (PI) e a taxa de reação de oxidação (k) do biodiesel com adição do extrato natural de polpa de jambolão (Tabela 8), foi observado um valor de 11,25 h para o PI e 0,2311 h⁻¹ para k. Para este extrato, o metal que apresentou maior interferência na oxidação foi o cromo, reduzindo o PI para 10,47 h, sendo uma redução de apenas 6,93 % e aumentando k para 0,2611 h⁻¹, equivalente a um aumento de 12,98 %. Na presença do íon manganês, a reação apresentou redução de 3,28 % no PI e aumento de 5,41 % em k. Com o íon cobalto, houve redução do PI de 4,62 % e aumento de k de 4,41 %. Esses percentuais para manganês e cobalto foram inferiores aos observados na presença dos extratos de erva mate e folhas de café. Esse comportamento pode estar associado à presença exclusiva de antocianinas no extrato alcoólico de jambolão, compostos conhecidos por desativar o oxigênio singlete gerado no início da oxidação do biodiesel na presença dos íons Co²⁺, Cr³⁺ e Mn²⁺ (Schaich, 2005; Wanasundara; Shahidi, 2005). Faria *et al.* (2011) identificaram compostos bioativos na polpa de jambolão in natura e destacaram a presença de antocianinas (210,90 mg equivalentes em catequina.100.g⁻¹) e carotenóides (89,20 µg.100.g⁻¹).

Tabela 8. Consolidação da interação dos íons metálicos no B100 com adição de extrato natural de polpa de jambolão.

Condição	PI (h)	Variação do PI (%)	k (h ⁻¹)	Variação do k (%)	Observação
Biodiesel + Jambolão	11,25	—	0,2311	—	Referência (sem íons metálicos)
Biodiesel + Íon Cromo (Cr ³⁺)	10,47	-6,93%	0,2611	+12,98%	Maior interferência, porém, efeito moderado
Biodiesel + Íon Manganês (Mn ²⁺)	10,88	-3,28%	0,2433	+5,41%	Efeito menos expressivo que no extrato de erva mate e café
Biodiesel + Íon Cobalto (Co ²⁺)	10,72	-4,62%	0,2412	+4,41%	Redução e aumento mais suaves em comparação com outros extratos

Fonte: Própria autora.

Constatou-se que a presença dos íons metálicos manganês (Mn^{2+}) e cobalto (Co^{2+}) no biodiesel, mesmo na presença dos extratos alcoólicos de erva-mate e folhas de café, ocasionou uma redução significativa no período de indução (PI) e um aumento na constante de velocidade da reação (k), quando comparado à amostra controle (B100). De acordo com Spacino *et al.* (2022), as reações de oxidação do biodiesel catalisadas por esses íons metálicos promovem a geração de radicais livres, o que justifica os resultados experimentais observados.

Entre os extratos empregados, o de jambolão demonstrou a maior capacidade em mitigar a influência dos íons metálicos. Contudo, a análise cromatográfica realizada no presente estudo evidenciou que este extrato foi o único a exibir a presença de antocianinas. Em virtude de sua estrutura química, caracterizada por ligações duplas conjugadas, as antocianinas mostram-se altamente sensíveis à luz, ao calor, à oxidação e às variações de pH, resultando em sua degradação sob tais condições (Brown; Kelly, 2007; Mercadante; Bobbio, 2007).

5.3 CONCLUSÃO

A adição de extratos alcoólicos com propriedades antioxidantes ao biodiesel resultou em um aumento do período de indução (PI) em comparação com a amostra controle (B100). Dentre os extratos naturais avaliados, o de folhas de café foi o que apresentou maior eficácia antioxidante, elevando o PI para 12,42 horas. Em contrapartida, a presença de íons metálicos, como cromo (Cr^{3+}), manganês (Mn^{2+}) e cobalto (Co^{2+}), independentemente da presença de extratos antioxidantes, promoveu a redução do PI em todos os ensaios. Notadamente, o extrato de erva-mate foi o mais sensível à ação do Mn^{2+} , com uma redução de 41,61 % no PI.

A taxa de reação (k) do biodiesel também foi impactada pela adição dos extratos antioxidantes. Observou-se uma diminuição significativa na constante de velocidade da reação em relação à amostra controle, cujo valor de k foi de $1,2976\ h^{-1}$. Na presença do extrato de folhas de café, a taxa de reação foi reduzida em até 6 vezes, alcançando um valor de k de $0,2197\ h^{-1}$. Todos os extratos naturais testados contribuíram para a diminuição da taxa de oxidação, embora em magnitudes distintas.

No que se refere à interação entre metais e extratos antioxidantes, verificou-se que o extrato de erva-mate apresentou a maior suscetibilidade à ação catalítica do Mn^{2+} , com um aumento de 83,79 % na taxa de oxidação do biodiesel. Por outro lado,

o íon Cr^{3+} foi o que demonstrou menor influência no processo oxidativo na presença do extrato de folhas de café, provocando um incremento discreto de apenas 3,55 % na taxa de oxidação.

Embora o extrato de folhas de café tenha proporcionado o maior período de indução, o extrato da polpa de jambolão destacou-se por apresentar melhor desempenho antioxidante na presença de íons metálicos, sugerindo uma maior estabilidade frente a processos catalíticos indesejáveis.

6. CONCLUSÃO FINAL

O presente estudo teve como objetivo principal avaliar a estabilidade oxidativa do biodiesel B100, produzido a partir de gordura de palma e óleo de soja, frente à adição de extratos naturais com propriedades antioxidantes e à presença de íons metálicos. A pesquisa envolveu a produção de extratos etanólicos de folhas de café (*Coffea arabica*), erva-mate (*Ilex paraguariensis*) e polpa de jambolão (*Syzygium cumini*), bem como a análise da taxa de reação de oxidação (k) e do período de indução (PI) do biodiesel, utilizando o método Rancimat[®] e ferramentas estatísticas de planejamento e otimização de misturas.

As equações preditivas obtidas a partir do planejamento experimental e da otimização pelo método simplex supermodificado foram eficazes na determinação das proporções ideais dos extratos, objetivando o aumento do período de indução (PI) e a redução da taxa de reação de oxidação.

Os resultados dos ensaios indicaram que o biodiesel B100 não atendeu ao requisito mínimo de período de indução estabelecido pela norma EN 14214, apresentando valor inferior a 8 horas. A adição de extratos naturais promoveu aumento significativo nesse parâmetro, com destaque para o extrato de folhas de café, que elevou o PI para 12,42 horas e reduziu a taxa de reação de oxidação (k) para $0,2296 \text{ h}^{-1}$, apresentando uma redução expressiva em relação ao biodiesel controle ($k = 1,2976 \text{ h}^{-1}$). Os extratos de erva-mate e polpa de jambolão também apresentaram desempenho positivo, embora em menores proporções.

A partir dos ensaios na presença de íons metálicos Cr^{3+} , Mn^{2+} e Co^{2+} que exerceram efeito catalítico na reação de oxidação em relação ao substrato, foi observado que o PI reduziu e houve um aumento da taxa de reação de oxidação na presença dos extratos etanólicos antioxidantes.

O íon Mn^{2+} foi o que mais impactou negativamente a estabilidade oxidativa da reação, sobretudo em combinação com o extrato de erva-mate, apresentou uma redução de 41,61 % no PI e aumento de 83,79 % na taxa de reação de oxidação. Por outro lado, o íon Cr^{3+} apresentou maior influência na presença do extrato de folhas de café. Contudo, apesar do maior PI ser na presença do extrato de folhas de café, o extrato da polpa de jambolão apresentou maior estabilidade oxidativa na presença de íons metálicos.

Os extratos naturais avaliados representam alternativas viáveis e sustentáveis

aos antioxidantes sintéticos para a proteção do biodiesel. O extrato de folhas de café destacou-se por melhorar significativamente a estabilidade oxidativa do biodiesel controle, enquanto o extrato de polpa de jambolão apresentou maior resistência à oxidação na presença de íons metálicos. Esses resultados evidenciam o valor dos antioxidantes naturais ao biodiesel, apresentando maior estabilidade oxidativa na presença ou ausência de íons metálicos catalíticos da reação de oxidação.

7 TRABALHO FUTURO

Monitorar a reação de oxidação do biodiesel e avaliar o potencial antioxidante de extratos naturais com propriedades antioxidantes com foco na redução taxa de reação de oxidação (k) e aumento do período de indução (PI) do biodiesel. Os testes de estabilidade oxidativa serão realizados em diferentes tempos de exposição do biodiesel, sob uma temperatura de 110,0 °C e fluxo de ar de 10,0 Lh⁻¹.

As amostras de biodiesel e solução aquosa contendo compostos voláteis e hidrossolúveis formados durante a degradação oxidativa dos ésteres metílicos presentes no biodiesel serão coletadas e analisadas utilizando um espectrômetro de ressonância magnética nuclear (RMN) de alta resolução operando a 9,40 T, 400 MHz (Marca: Bruker) para aquisição de espectros.

Com este trabalho espera-se aperfeiçoar o processo de conservação do biodiesel visando o aumento do período confiável entre sua produção e utilização. Com isso, espera-se uma melhoria contínua da qualidade, estocagem e produtividade, gerando interação entre o meio acadêmico e o setor operacional.

8 REFERÊNCIAS

AKBARIRAD, H.; ARDABILI, A. G.; KAZEMEINI, S. M.; KHANEGHAH, A. M. An overview on some of important sources of natural antioxidants. **International food research journal**, v.23, n.3, p.928-933, 2016.

ASTM D2500. Standard Test Method for Cloud Point of Petroleum Products and Liquid Fuels, **ASTM International**, West Conshohocken, PA, 2017.

ASTM D4052, Standard Test Method for Density, Relative Density, and API Gravity of Liquids by Digital Density Meter, **ASTM International**, West Conshohocken, PA, 2018.

ASTM D445, Standard Test Method for Kinematic Viscosity of Transparent and Opaque Liquids (and Calculation of Dynamic Viscosity), **ASTM International**, West Conshohocken, PA, 2021.

ASTM D6304. Standard Test Method for Determination of Water in Petroleum Products, Lubricating Oils, and Additives by Coulometric Karl Fischer Titration, **ASTM International**, West Conshohocken, PA, 2020.

ASTM D664. Standard Test Method for Acid Number of Petroleum Products by Potentiometric Titration, **ASTM International**, West Conshohocken, PA, 2018.

ASTM D93, Standard Test Methods for Flash Point by Pensky-Martens Closed Cup Tester, **ASTM International**, West Conshohocken, PA, 2020.

BARBOLLA, Iratxe; SOTOMAYOR, Nuria; LETE, Esther. Transition metal-guanidine complexes as catalysts in organic reactions. Recent developments. *ARKIVOC: Online Journal of Organic Chemistry*, 2020 (DOI: <https://doi.org/10.24820/ark.5550190.p011.265>).

BAZYAR, Pourya. Impacts of progressive biofuels on environmental sustainability. **Environmental Sustainability of Biofuels**, p.313-327, 2023 (DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91159-7.00018-7>).

BELISÁRIO, Celso Martins; SILVA, Wesley Almeida; FAVARETO, Rogério; LIMA, Ian Ferreira; DOS SANTOS, Paulo César; MAIA, Geisa Priscilla Araújo Gomes; OLIVEIRA, Stheffany Sousa. Características biométricas e físico-químicas, compostos bioativos e atividade antioxidante do mesocarpo e teor lipídico da amêndoa do jerivá. *Research, Society and Development*, 9(8), e65985084-e65985084, 2020 (DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i8.5084>).

BONA, Evandro; BORSATO, Dionísio; SILVA, Rui Sérgio dos Santos Ferreira; HERRERA, Paula. Software for optimization using a sequential simplex method. **Acta Scientiarum**, v.22, n.5, p.1201-1206, 2000 (DOI: <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v22i0.3012>).

BORSATO, Dionísio.; DALL'ANTONIA, Luiz Henrique.; GUEDES, Carmen Luísa

Barbosa.; MAIA, Elaine Cristina Reis.; FREITAS, Heverson Renan.; MOREIRA, Ivanira.; SPACINO, Kelly Roberta. Aplicação do delineamento simplex-centroide no estudo da cinética da oxidação de biodiesel B100 em mistura com antioxidantes sintéticos. **Química Nova**, v.33, n.8, p.1726-1731, 2010 (DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000800020>).

BORSATO, Dionísio.; GALÃO, Olivo Fernandes.; MOREIRA, Ivanira. **Combustíveis fósseis: Carvão e Petróleo**. EDUEL, 2009 [ISBN 978-85-7216-480-1].

BORSATO, Dionísio.; GALVAN, Diego; PEREIRA, Jaqueline. L. Orives; ANGILELLI, Karina G; COPPO, Rodolfo L. Kinetic and thermodynamic parameters of biodiesel oxidation with synthetic antioxidants: simplex centroid mixture design. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.25, p.1984-1992, 2014 (DOI: <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20140182>).

BRANCO, Isadora Guilherme.; CAMPOS, Júlia. W.; SILVA, Nathan. F.; CLEMENTE, Marco Aurélio J.; MANTOVANI, Ana Carolina G.; CHENDYNSKI, Letícia Thaís.; BORSATO, Dinísio. Mathematical modeling of the biodiesel oxidation process in the presence of natural ethanolic extracts of jabuticaba peels, gabioba leaves, and hibiscus flowers. **Química Nova**, v.47, n.1, p.e-20230090, 2024 (DOI: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20230090>).

BRANCO, Isadora Guilherme.; CAMPOS, Júlia. W.; SILVA, Nathan. F.; GONÇALVES-FILHO, J.; ROMAGNOLI, Erica S.; MANTOVANI, Ana Carolina G.; ANGILELLI, Karina Benassi.; BORSATO, Dinísio. Monitoring of biodiesel oxidation reaction in the absence and presence of coffee leaves extract as an antioxidant additive. **Biofuels**, 2025 (DOI: [10.1080/17597269.2025.2513857](https://doi.org/10.1080/17597269.2025.2513857)).

BRANDÃO, Taís Silva Oliveira; SENA, Amanda Reges; TESHIMA, Elisa; DAVID, Jorge Maurício; ASSIS, Sandra Aparecida. Changes in enzymes, phenolic compounds, tannins, and vitamin C in various stages of jambolan (*Syzygium cumini* Lamark) development. **Food Sci. Technol**, v.31, n.4, p.849-855, 2011 (DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612011000400004>).

BRASIL. Resolução, ANP Nº. 920, **Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis** de 04.04.2023. DOU 05.04.2023.

BROWN, Jonathan E; KELLY, Mary F. Inhibition of lipid peroxidation by anthocyanins, anthocyanidins and their phenolic degradation products. **Eur. J. Lipid Sci. Technol.** v.109, p.66-71, 2007 (DOI: <https://doi.org/10.1002/ejlt.200600166>).

CALDAS, Tais W.; MAZZA, Karen E. L.; TELES, Aline S. C.; MATTOS, Gabriela N.; BRIGIDA, Ana Iraidy S. Brígida; CONTE-JUNIOR, Carlos A.; BORGUINI, Renata G.; GODOY, Ronoel Lourdes. O.; TONON, Renata V. Phenolic compounds recovery from grape skin using conventional and non-conventional extraction methods. **Industrial Crops and Products**, v.111, p.86-9, 2018 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.012>).

CAMPA, Claidine.; MONDOLOT, Laurence.; RAKOTONDRAVAO, Arsene.; BIDEL, Luc P. R.; GARGADENNEC, Annick.; COUTURON, Emmanuel.; LA FISCA, Phillippe.;

RAKOTOMALALA, Jean-Jacques.; JAY-ALLEMAND, Cristian.; DAVIS, Aaron P. Survey of mangiferin and hydroxycinnamic acid ester accumulation in coffee (*Coffea*) leaves: biological implications and uses. **Annals of Botany**, v.110, n.3, p. 595-613, 2012 (DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcs119>).

CHEN, Xiumin. A review on coffee leaves: Phytochemicals, bioactivities and applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.59, 2019 (DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1546667>).

CHENDYNSKI, L. T.; CORDEIRO, T.; MESSIAS, G. B.; MANTOVANI, A. C. G, SPACINO, K.R., ZERAIK, M.L., BORSATO, D. Evaluation and application of extracts of rosemary leaves, araçá pulp and peel of bacuri in the inhibition of the oxidation reaction of biodiesel. **Fuel**, v.261, p.116379, 2020 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.116379>).

CHERWOO, Lubhan.; GUPTA, Ishika.; FLORA, G.; VERMA, Ritu.; KAPIL, Muskaan.; ARYA, Shailendra Kumar.; RAVINDRAN, Balasubramani.; KHOO, Kuan Shiong; BHATIA, Shashi Kant.; CHANG, Soon Woong.; NAGAMCHARUSSRIVICHAI, Chawalit.; ASHOKKUMAR, Veeramuthu. Biofuels an alternative to traditional fossil fuels: A comprehensive review. **Sustainable energy technologies and Assessments**, v.60, 2023 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.seta.2023.103503>)

CHEUNG, Yiuchung.; MEENU, Maninder.; YU, Xiaoming.; XU, Baojun. Phenolic acids and flavonoids profiles of commercial honey from different floral sources and geographic. **International Journal of Food Properties**. v.22, n.1, p.290–308, 2019 (DOI: <https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1579835>).

CICAN, Grigore; DEACONU, Marius; MIREA, Radu; CEATRA, Laurentiu Constantin; CRETU, Mihaiella. An experimental investigation to use the biodiesel resulting from recycled sunflower oil, and sunflower oil with palm oil as fuels for aviation turbo-engines. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(10), 5189, 2021 (DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph18105189>)

CLEMENTE, Marco Aurelio Jeanegitz.; BRANCO, Isadora Guilherme.; ROMAGNOLI Erica Signori.; GONÇALES FILHO, José.; MANTOVANI, Ana Carolina Gomes; CHENDYNSKI, Letícia Thais.; BORSATO, Dionisio. Estimation of the storage time of biodiesel at room temperature in mixture with natural antioxidants and metallic ions: A semi-empirical study. **Fuel**, 2023 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2023.129276>).

COELHO, Felipe de Luca Lima; SANTOS, Iara Oliveira; DA PAIXÃO, Daniel Campos; LHAMAS, Dyenny Ellen Lima; RODRIGUES, Gicélia; SUFFREDINI, Daiane Farias Pereira; DE MEDEIROS, Ana Cláudia Gondim. Produção de biodiesel de óleo de fritura residual em um módulo didático de biodiesel. **Brazilian Journal of Development**, v.6, n.5, p.28844-28851, 2020 (DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n5-363>)

COPPO, Rodolfo Lopes; PEREIRA, Jaqueline Laís; SILVA, Hágata Cremasco.; ANGILELLI, Karina Gomes; RODRIGUES Paulo Rogério Pinto.; GALVAN, Diego; BORSATO, Dionísio. Effect of Natural Antioxidants on Oxidative Stability of Biodiesel from Soybean Oil. Applying Simplex-Centroid Design. **Journal of Biobased**

Materials and Bioenergy, v.8, p.545-551, 2014 (DOI: <https://doi.org/10.1166/jbmb.2014.1468>).

CORNELL, John A. **Experiments with mixtures - designs, models and the analysis of mixture data**. 2^a. ed. New York: John Wiley and Sons, 1990.

CORREIA, I. A. S., BORSATO, D., SAVADA, F. Y., PAULI, E. D., MANTOVANI, A. C. G., CREMASCO, H., CHENDYNSKI, L. T. Inhibition of the biodiesel oxidation by alcoholic extracts of green and black tea leaves and plum pulp: Application of the simplex-centroid design. **Renewable Energy**, v.160, p.288-296, 2020 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.06.118>).

DA SILVA MACÊDO, Alberto Jefferson; NETO, José Maria Cesar; DE OLIVEIRA, Leydiane Bezerra; EDVAN, Ricardo Loiola; SANTOS, Edson Mauro. A cultura da palma, origem, introdução, expansão, utilidades e perspectivas futuras: Revisão de Literatura. *Brazilian Journal of Development*, 6(8), 62967-62987, 2020 (DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n8-652>)

DAI, Jin; MUMPER, Russell J. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidants and anticancer properties. **Molecules**, v.15, n.10, p.7313-7352, 2010 (DOI: <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>).

DARTORA, Nessana. Avaliação dos polissacarídeos e metabolitos secundários das folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) em diferentes estados fisiológicos e de processamento, 2010.

DE BRITO, Edy Sousa; DE ARAUJO, Manuela Cristina Pessanha; ALVES, Ricardo Elesbão; CARKEET, Colleen; CLEVIDENCE, Beverly A; NOVOTNY, Janet A. Anthocyanins present in selected tropical fruits: acerola, jambolão, jussara, and guajiru. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, n.23, p.9389-9394, 2007 (DOI: <https://doi.org/10.1021/jf0715020>).

DE SOUZA, Susane Maciel; MORAIS, Rômulo Alves; DA SILVA GUALBERTO, Larissa; SOUSA, Hermanny Matos Silva; DE SOUZA MARTINS, Glêndara Aparecida; PELUZIO, Joênes Mucci. Teor de óleo em cultivares de soja visando a produção de biocombustível no Estado do Tocantins. *Desafios*, 820, 2020 (DOI: <http://dx.doi.org/10.20873/uftsupl2020-8480>).

DERRINGER, George; SUICH, Ronald. Simultaneous Optimization of Several Response Variables. **Journal of Quality Technology**, v.12, n.4, p.214-219, 1980 (DOI: <https://doi.org/10.1080/00224065.1980.11980968>).

DOGAN, Eyup; LUNI, Tania; MAJEED, Muhammad Tariq; TZEREMES, Panayiotis. The nexus between global carbon and renewable energy sources: A step towards sustainability. **Journal of Cleaner Production**, v.416, p.137927, ISSN 0959-6526, 2023 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.137927>).

DOMINGOS, Anderson K; SAAD, Emir B; VECHIATTO, Wellington W. D; WILHELM, Helena M; RAMOS, Luiz P. The influence of BHA, BHT and TBHQ on the oxidation stability of soybean oil ethyl esters (biodiesel). *Journal of the Brazilian Chemical*

Society, v.18, p.416-423, 2007 (DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-50532007000200026>).

DUNN, Robert O. Effect of antioxidants on the oxidative stability of methyl soyate (biodiesel). **Fuel Processing Technology**, v.86, p.1071-1085, 2005 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2004.11.003>).

EN 14111: Fat and Oil Derivatives. Fatty Acid Methyl Esters (FAME). Determination of Iodine Value; **European Committee for Standardization**: Brussels, 2003.

EN 14112: Fat and Oil Derivatives. Fatty Acid Methyl Esters (FAME). Determination of Oxidation Stability (Accelerated Oxidation Test); **European Committee for Standardization**: Brussels, 2003.

EN 14214: Liquid petroleum products. Fatty acid methyl esters (FAME) for use in diesel engines and heating applications. Requirements and test methods. **European Committee for Standardization**, 2020.

FARIA, Adelia F; MARQUES, Marcella C; MERCADANTE, Adriana Z. Identification of bioactive compounds from jambolão (*Syzygium cumini*) and antioxidant capacity evaluation in different pH conditions. **Food Chem**, v.126, p.1571–1578, 2011 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.007>).

FAZAL, M. A; HASEEB, A. S. M. A; MASJUKI, H. H. A critical review on the tribological compatibility of automotive materials in palm biodiesel. *Energy Conversion and Management*, 79, 180-186, 2014 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2013.12.002> Get rights and content).

FIGUEIRA, Mariana Moreira; GUIDONI, Marcio; FRONZA, Marcio. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIBACTERIANA DE ÓLEOS VEGETAIS. **Múltiplos Acessos**, v. 8, n. 4, p. 122-140, 2024. (DOI: <https://doi.org/10.51721/2526-4036/v8n4a8>).

FREITAS, João P. A.; FRANÇA, Fernanda R. M.; SILVA, Maria S.; TOMS, Richard J.; DA SILVA, Gabriel F. Evaluation of antioxidant activity of natural extracts on the oxidative stability of cottonseed biodiesel. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v.36, p.905-911, 2019 (DOI: <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20190362s20180308>).

FRIZON, Cátia N. T; OLIVEIRA, Gabrieli A; PERUSSELLO, Camila A; PERALTA-ZAMORA, Patrício G; CAMLOFSKI, Ana M. O; ROSSA, Überson B; HOFFMANN-RIBANI, Rosemary. Determination of total phenolic compounds in yerba mate (*Ilex paraguariensis*) combining near infrared spectroscopy (NIR) and multivariate analysis. **LWT - Food Science and Technology**, v.60, p.795-801, 2015 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.10.030>).

GALVAN, Diego; ORIVES, Juliana R; COPPO, Rodolfo L; SILVA, Elisângela T; ANGILELLI, Karina G; BORSATO, Dionisio. Determination of the kinetics and thermodynamics parameters of biodiesel oxidation reaction obtained from an optimized mixture of vegetable oil and animal fat. *Energy Fuels*. 27(11):6866–6871,

2013 (DOI: <https://doi.org/10.1021/ef401927x>).

GERIS, Regina.; DOS SANTOS, Nádia Alessandra Carmo.; AMARAL, Bruno Andrade.; MAIA, Isabelle de Souza.; CASTRO, Vinicius Dourado.; CARVALHO, José Roque Mota. Biodiesel de soja: reação de transesterificação para aulas práticas de química orgânica. **Química nova**, v.30, p.1369-1373, 2007.

GREGÓRIO, Ana Paula Hilário; ROMAGNOLI, Érica Signori; BORSATO, Dionísio; GALVAN, Diego; SPACINO, Kelly Roberta. Kinetic and thermodynamic parameters in biodiesel oxidation reaction in the presence of coffee leaves and sage extracts. **Sustainable Energy Technologies and Assessments**, v. 28, p.60-64, 2018 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.seta.2018.06.008>).

GUIMARÃES, Sandryne Carla Neves; ALVES, Danila Teresa Valeriano; SOUZA, Rosa Beatriz Monteiro; DA COSTA, Carlos Emmerson Ferreira; DE MELO, Katiane Cunha, DE OLIVEIRA, Ingrid Silva; SOARES, Stephanie Dias; DOS SANTOS, Orquídea Vasconcelos. Desenvolvimento de formulações fermentadas probióticas mistas enriquecidas com óleos de frutos amazônicos. *Brazilian Journal of Development*, 6(3), 10882-10901, 2020 (DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n3-093>).

GULCIN, İlhami. Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. **Arch toxicol**, v. 94, n. 3, p. 651-715, 2020 (DOI: <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>).

HAMINIUK, Charles W I.; MACIEL, Giselle M.; PLATA-OVIEDO, Manuel S V.; PERALTA, Rosane M. Phenolic compounds in fruits – an overview. **International Journal of Food Science and Technology**. v.47, p.2023–2044, 2012 (DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03067.x>).

HAN, Yingying.; DU, Jinhua.; LI, Jie.; LI, Miaomiao. Quantification of the Organic Acids in Hawthorn Wine: A Comparison of Two HPLC Methods. **Molecules**, v.24, p.2150, 2019.

JAIN, Siddharth; SHARMA, M. P. Stability of biodiesel and its blends: a review. **Renewable and sustainable energy reviews**, v.14, n.2, p.667-678, 2010 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.10.011>).

JENKINS, Rhodri W; ELLIS, Emrys H; LEWIS, Emily J; PATERSON, Michael; LE, Chien Dinh; TING, Valeska P; CHUCK, Christopher J. Production of Biodiesel from vietnamese waste coffee beans: biofuel yield, saturation and stability are all elevated compared with conventional coffee biodiesel. **Waste Biomass Valorization**, 2016 (DOI: <https://doi.org/10.1007/s11746-003-0778-x>).

KAHIMBI, Henry; KICHONGE, Baraka; KIVEVELE, Thomas. The Potential of Underutilized Plant Resources and Agricultural Wastes for Enhancing Biodiesel Stability: The Role of Phenolic-Rich Natural Antioxidants. *International Journal of Energy Research*. p.1-30, 2023 (DOI: <https://doi.org/10.1155/2023/9389270>).

KIMURA, Marissa; SAVADA, Felipe Yassua; ROMAGNOLI, Erica Signori; CHENDYNSKI, Letícia Taís; BORSATO, Dionísio. Modelagem matemática do fator de proteção relativa dos antioxidantes sintéticos em biodiesel comercial. **Revista Virtual**

Quim, v.1, n.4, p.1097-1105, 2019 (DOI: <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20190075>).

KNOTHE, Gerhard; STEIDLEY, Kevin R. Kinematic viscosity of biodiesel fuel components and related compounds. Influence of compound structure and comparison to petrodiesel fuel components. **Fuel**, v.84, n.9, p.1059-1065, 2005 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2005.01.016>).

KUMAR, Niraj. Oxidative stability of biodiesel: Causes, effects and prevention. **Fuel**, v. 190, p. 328-350, 2017 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.11.001> **Get rights and content**).

KUMAZAWA, Shigenori.; HAMASAKA, Tomoko.; NAKAYAMA, Tsutomu. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food chemistry*, v.84, n.3, p.329-339, 2004.

LANCHEROS, Andrés; GUEDES, Carmen; BORSATO, Dionisio. Multiresponse optimization of biodiesel obtained from a mixture of soybean oil, beef tallow, and waste cooking oil. **Biofuels**, 2023 (DOI: <https://doi.org/10.1080/17597269.2023.2175477>).

LICHTENTHALER, Hartmut K., BUSCHMANN, Claus. Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy. **Current protocols in Food analytical Chemistry**. p.431-438, 2001 (DOI: <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0403s01>).

LILLARD, D. A; DAY, E. A. Degradation of monocarbonyls from autoxidizing lipids. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v.41, n.8, p.549-552, 1964.

LIRA, Gilso Blanco; DA COSTA LOPES, Anna Sylmara; DE ARAÚJO NASCIMENTO, Fabiana Cristina; DOS SANTOS CONCEIÇÃO, Gyselle; BRASIL, Davi do Socorro Barros. Processos de extração e usos industriais de óleos de andiroba e açai: uma revisão. *Research, Society and Development*, 10(12), e229101220227-e229101220227, 2021 (DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i12.20227>).

MA, Fangrui; HANNA, Milford A. Biodiesel production: a review. **Bioresource technology**, v.70, n.1, p.1-15, 1999 (DOI: [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(99\)00025-5](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(99)00025-5)).

MAIA, Elaine Cristina R; BORSATO, Dionísio; MOREIRA, Ivanira; SPACINO, Kelly Roberta; RODRIGUES, Paulo Rogério P; GALLINA, André Lazarin. Study of the biodiesel B100 oxidative stability in mixture with antioxidants, **Fuel Processing Technology**, v.9, n.9, p.1750-1755, ISSN 0378-3820, 2011 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2011.04.028>).

MANTOVANI, Ana Carolina Gomes; CHENDYNSKI, Letícia Thaís; GALVAN, Diego; DE MACEDO JÚNIOR, Fernando César; BORSATO, Dionísio; DI MAURO, Eduardo. Thermal-oxidation study of biodiesel by proton nuclear magnetic Resonance (¹H NMR). **Fuel**, v. 274, p. 117833, 2020 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.117833>).

MARCHI, J; BRESSIANI, José Carlos; BRESSIANI, Ana Helena Almeida;

BRUNS, Roy Edward. Mixture Design and Response Surface Analysis of Densification of Silicon Carbide Ceramics with (SiO₂-Dy₂O₃-Al₂O₃) Additives. **International Journal of Applied Ceramic Technology**, v.7, n.4, p.493-501, 2010 (DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7402.2009.02358.x>).

McLEAN, R. A; ANDERSON, V. L. Extreme vertices designs of mixture experiments. **Technometrics**, Washington, v. 8, n. 3, p. 447-454, 1966 (DOI: <https://doi.org/10.1080/00401706.1966.10490377>).

MEDEIROS, Maria L; CORDEIRO, Angela M. M. T; QUEIROZ, Neide; SOLEDADE, Antonia L. Souza; SOUZA, Antonio G. Efficient antioxidant formulations for use in biodiesel. **Energy & fuels**, v. 28, n. 2, p. 1074-1080, 2014 (DOI: [dx.doi.org/10.1021/ef402009e](https://doi.org/10.1021/ef402009e)).

MERCADANTE, A. Z.; BOBBIO, F. O. Antocyanins in foods: occurrence and physicochemical properties. **Food colorants: Chemical and functional properties**. Editora CRC Press, New York, p. 241-276, 2007.

MITTELBACH, Martin; SCHOBER, Sigurd. The influence of antioxidants on the oxidation stability of biodiesel. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v.80, n.8, p.817-823, 2003 (DOI: <https://doi.org/10.1007/s11746-003-0778-x>).

NELDER, John A; MEAD, Roger. A simplex method for function minimization. **Computer J.** v.7, n.4, p.308-313, 1965 (DOI: <https://doi.org/10.1093/comjnl/8.1.27>).

NGUANG, Suok Ling.; YEONG, Yi Ling.; PANG, Sook Fun.; GIMBUN, Jolius. Ultrasonic assisted extraction on phenolic and flavonoid content from Phyllanthus niruri plant. **Indian Journal of Science and Technology**, v.10, n.2, p.1-5, 2017 (DOI: [10.17485/ijst/2017/v10i2/110391](https://doi.org/10.17485/ijst/2017/v10i2/110391)).

NIRMALA, M. Joyce; SEKAR, P. Chandra; JOHNSON, Athira; KIZHUVETIL, Uma; SHORA, Shasmeen; NAGARAJAN, R. A comprehensive review of nanoadditives in Plant-based biodiesels with a special emphasis on essential oils. **Fuel**, v.351, p.128934, ISSN 0016-2361, 2023 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2023.128934>).

NTOURTOGLOU, George.; DROSOU, Fotini.; DOURTOGLOU, Vassilis G.; ATHANASIADIS, Vassilis.; CHATZIMITAKOS, Theodoros.; BOZINO, Eleni.; LALAS, Stavros I. Hyphenated Extraction of Valuable Compounds from Aesculus carnea: Ultrasound Extraction with Pulsed Electric Field Pretreatment. **AgriEngineering**, v.4, n.4, p.847-854, 2022 (DOI: <https://doi.org/10.3390/agriengineering4040054>).

OIRAM-FILHO, Francisco.; ALCÂNTARA, Daniel Barbosa.; RODRIGUES, Tigressa Helena Soares.; SILVA, Lorena Mara Alexandre.; SILVA, Ebenezer de Oliveira.; ZOCOLO, Guilherme Julião.; DE BRITO, Edy Sousa. Development and Validation of a Reversed Phase HPLC Method for Determination of Anacardic. **Nut Shell Liquid Journal of Chromatographic Science**, v.56, n.4, p.300-306, 2018 (DOI: <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmx111>).

OZCAN, T.; AKPINAR-BAYIZIT, A.; YILMAZ-ERSAN, L.; DELIKANLI, B. Phenolics in human health. **International Journal of chemical engineering and applications**, v.5, n.5, p.393, 2014 (DOI: [10.7763/IJCEA.2014.V5.416](https://doi.org/10.7763/IJCEA.2014.V5.416)).

PAULI, Elis Daiane; SCHEEL, Guilherme Luiz; DELAROZA, Fernanda; RAKOCEVIC, Miroslava; BRUNS, Roy Edward; SCARMINIO, Ieda Spacino. Photodiode array chromatographic-spectrophotometric metabolite quantification for yerba-mate plant sexual dimorphism differentiation. *Microchem J.* 2019 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104218>).

PENG, Zezhi; ZHANG, Bin; WANG, Djwei; NIU, Xinyi; SUN, Jian; XU, Hongmei; CAO, Junji; SHEN, Zhenxing. Application of machine learning in atmospheric pollution research: A state-of-art review. **Science of The Total Environment**, v.910, p.168588, ISSN 0048-9697, 2024 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.168588>).

PEREIRA, Vanda; CÂMARA, José S; CACHO, Juan; MARQUES, José C. HPLC-DAD methodology for the quantification of organic acids, furans and polyphenols by direct injection of wine samples. **Journal of separation science**, v.33, n.9, p.1204-1215, 2010 (DOI: <https://doi.org/10.1002/jssc.200900784>).

PIRES, M. V. P.; BORSATO, D.; SILVA, R. S. F. Desenvolvimento de aplicativo para microinformática visando a otimização de sistemas alimentares. In: **Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Rio de Janeiro. Anais SBCTA, v.3, p.1565- 1568, 1998.

PRASAD, Shiv; YADAV, Krishna Kumar; KUMAR, Sandeep; PANDITA, Priti; BHUTTO, Javed Khan; ALRESHIDIF, Maha A; RAVINDRAN, Balasubramani; YASEEN, Zaher Mundher; OSMAN, Sameh M; CABRAL-PINTO, Marina M. S. Review on biofuel production: Sustainable development scenario, environment, and climate change perspectives – A sustainable approach. **Journal of Environmental Chemical Engineering**. v.12, 2024 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2024.111996>).

QI, Xinli; LI, Zhenfu; ZHAO, Changping; ZHANG, Qiqi; ZHOU, Yutao. Environmental impacts of Arctic shipping activities: A review. **Ocean & Coastal Management**, v.247, p.106936, ISSN 0964-5691, 2024 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2023.106936>).

RAHMAN, S. M. A; FATTAH, I. M. R; MAITRA, R; Mahlia, T. M. I. A ranking scheme for biodiesel underpinned by critical physicochemical properties. **Energy Conversion and Management**, v. 229, p. 113742, 2021 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2020.113742>).

REGAZZONI, Luca; SALIGARI, Frederica; MARINELLO, Cristina; ROSSONI, Giuseppe; ALDINI, Giancarlo; CARINI, Marina; ORIOLI, Marica. Coffee silver skin as a source of polyphenols: High resolution mass spectrometric profiling of components and antioxidant activity. **Journal of Functional Food**, v.20, p.472, 2016 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.11.027>).

RÊGO, Dayane Mylena Gomes; DA SILVA, Lucas Cavalcante; DE MORAIS OLIVEIRA, Marcelo Nascimento, DE MELO, Ricardo Paulo Fonseca; CARMO, Shirlene Kelly Santos. Planejamento fatorial e avaliação econômica do processo de produção de biodiesel a partir da gordura suína. **Research, Society and Development**, v.9, n.9, 2020 (DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i9.7263>)

ROBBINS, Rebecca J. Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. **J. Agric. Food Chem.** v.51, n.10, p.2866–2887, 2003 (DOI: <https://doi.org/10.1021/jf026182t>).

RODRIGUES, Fernando Altino Medeiros; DE SOUZA, Marcelo Augusto Vieira; LACERDA, Dilma dos Santos; MILAGRES, Thiago Ernani Guinancio; DE LIMA, Mariana Bessa Ribeiro. Histórico do Biodiesel no Brasil e comparação de emissões de gases do efeito estufa. *Caderno Pedagógico*, 22(8), e17151-e17151, 2025 (DOI: <https://doi.org/10.54033/cadpedv22n8-123>).

RODRIGUEZ-AMAYA, Delia. B. **Food carotenoids: chemistry, biology and technology**. John Wiley & Sons, 2015.

ROMAGNOLI, Érica Signori; BORSATO, Dionísio; SILVA, Livia Ramazzoti Chanan; CHENDYNSKI, Letícia Chendysnki; ANGILELLI, Karina. Gomes; CANESIN, Edmilson Antônio. Kinetic parameters of the oxidation reaction of commercial biodiesel with natural antioxidant additives. **Industrial Crops and Products**, v.125, p.59-64, 2018 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.077>).

SADILOVA, Eva.; STINTZING, Florian C.; CARLE, Reinhold. Anthocyanins, Colour and Antioxidant Properties of Eggplant (*Solanum melongena* L.) and Violet Pepper (*Capsicum annuum* L.). **Peel Extract. Verlag der Zeitschrift für Naturforschung**. v.61, n.7-8, p.527-535, 2006 (DOI: <https://doi.org/10.1515/znc-2006-7-810>).

SAHA, Supradip.; SINGH, Jashdir.; PAUL, Anindita.; SARKAR, Rohan.; KHAN, Zareen.; BANERJEE, Kaushik. Anthocyanin Profiling Using UV-Vis Spectroscopy and Liquid Chromatography Mass Spectrometry. **Journal of AOAC INTERNATIONAL**, v. 103, p.23–39, 2020 (DOI: <https://doi.org/10.5740/jaoacint.19-0201>).

SANTOS, Aline Elias.; AGUIAR, Gean Pablo Silva.; MAGRO, Camila Dal.; LACOWICZ, Roberto Alves.; FEDRIGO, Isabela Maia Toaldo.; BORDIGNON-LUIZ, Marilde Teresinha.; OLIVEIRA, José Vlamir.; LANZA, Marcelo. Impact of drying method as pretreatment for extraction of bioactive compounds from jambolan (*Syzygium cumini* (L.) Skeels). **Braz. J. Food Technol.** v.25, 2022 (DOI: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.05521>).

SCHAICH, K. M. **Lipid Oxidation: Theoretical Aspects**. In: Bailey's Industrial Oil and Fat Products. Ed. John Wiley & Sons: New Jersey, 2005 (DOI: <https://www.researchgate.net/publication/227991139>).

SCHEFFÉ, Henry. The simplex-centroid design for experiments with mixtures. **Journal of Royal Statistical Society**, v.25, n.9, p.235-263, 1963 (DOI: <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1963.tb00506.x>).

SCHUG, Tamires Soares; DE MORAES, Lilia Schug; DA COSTA, Diego Araujo; SOUZA, Andressa Salies; SILVEIRA, Larissa Riberas; MENDONÇA, Carla. Avaliação de óleos vegetais refinados comercializados na cidade de Pelotas-RS. *Revista Perspectiva*, 47(179), 53-60, 2023 (DOI: <https://doi.org/10.31512/persp.v.47.n.179.2023.345.p.53-60>).

SHARMILA, V. Godving; SHANMUGAVEL, Surya Prakash; BANU, J. Rajesh. A review

on emerging technologies and machine learning approaches for sustainable production of biofuel from biomass waste. **Biomass and Bioenergy**, v.180, p.106997, 2024 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2023.106997>).

SILVA, Elisangela Tavares.; SPACINO, Kelly Roberta.; SILVA, Livia Ramazzoti Chanan.; ROMAGNOLI, Érica Signori.; ANGILELLI, Karina Gomes.; BORSATO, Dionísio. Modelling of relative protection factor of antioxidants TBHQ, BHT and BHA in mixture with biodiesel. **Acta Scientiarum. Technology**, v.40, n.1, p.35108, 2018.

SINGH, Dharendra P.; GOVINDARAJAN, R.; KHARE, Anakshi.; RAWAT Ajay K. S. Optimization of a High-Performance Liquid Chromatography Method for the Separation and Identification of Six Different Classes of Phenolics. **Journal of Chromatographic Science**, v.45, 2007 (DOI: <https://doi.org/10.1093/chromsci/45.10.701>).

SOUSA, Rogério Adelino; RIBEIRO, Caue. Study of an electrochemical method to sunflower oil to biodiesel conversion assessment. **Química Nova**, v. 35, n.1, p.51-54, 2012 (DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000100010>).

SPACINO, Kelly Roberta; BORSATO, Dionísio; BUOSI, Gabriela M; CHENDYNSKI, Letícia Thaís. Determination of kinetic and thermodynamic parameters of the B100 biodiesel oxidation process in mixtures with natural antioxidants. **Fuel Processing Technology**, v.137, p.366-370, 2015 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2015.05.006>).

SPACINO, Kelly Roberta; ANGILELLI, Karina Benassi.; DA SILVA, Hagata Cremasco. **Catalytic effect modelling of different transition metal ions in the commercial biodiesel oxidation reaction**. In: ANGILELLI, Karina Benassi.; MANTOVANI, Ana Carolina Gomes.; CHENDYNSKI, Letícia Thaís. Mathematical Modeling of Biofuel Synthesis and Storage. 1. ed. Londrina: EDUEL, 2022, p. 108 – 126.

SPENDLEY, W; HEXT, G. R; HIMSWORTH, F. R. Sequential application of simplex designs in optimization and evolutionary operation. **Technometrics**, v.4, p.441-461, 1962 (DOI: <https://doi.org/10.1080/00401706.1962.10490033>).

SUI, Meng.; CHEN, Yong.; LI, Fashe.; WANG, Hua. Study on transition metal ion Fe³⁺ catalyzed biodiesel oxidation and inhibition mechanism. **Fuel**, v.303, p.121288, 2021 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.121288>).

SUNDUS, F; FAZAL, M. A; MASJUKI, H. H. Tribology with biodiesel: A study on enhancing biodiesel stability and its fuel properties. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 70, 399-412, 2017 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.11.217>).

SUVEGES, Nicolas Siktar. **Estudo da adição de produtos vegetais no biodiesel de canola e de girassol visando à estabilidade térmica e oxidativa**. 2014. 109 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Escola de Engenharia de Lorena, Engenharia Química, Universidade de São Paulo, Lorena, 2014.

TAJIMA, Hideo; ABE, Masahiro; KOMATSU, Hiroyuki; YAMAGIWA, Kazuaki. Feasibility of additive winterization of biodiesel fuel derived from various edible oils

and fat. **Fuel**, v. 305, p. 121479, 2021 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.121479>).

TANIGUCHI, Masahiko; LAROCCA, Connor A.; BERNAT, Jake D.; LINDSEY, Jonathan S. Digital Database of Absorption Spectra of Diverse Flavonoids Enables Structural Comparisons and Quantitative Evaluations. **J. Nat. Prod.** v.86, n.4, p.1087–1119, 2023 (DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.2c00720>).

TATARCZAK-MICHALEWSK, Małgorzata.; FLIEGER, Jolanta. Application of High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection to Simultaneous Analysis of Reference Antioxidants and 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) in Free Radical Scavenging Test. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, v.19, n.14, p.8288, 2022 (DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph19148288>).

TRITSCH, Nadine.; STEGER, Marc C.; SEGATZ, Valerie.; BLEMENTHAL, Patrik.; RIGLING, Marina.; SCHWARZ, Steffen.; ZHANG, Yanyan.; FRANKE, Heike.; LACHENMEIER, Dirk W. Risk Assessment of Caffeine and Epigallocatechin Gallate in Coffee Leaf Tea. **Foods**, v.19, n.11, p.263, 2022 (DOI: <https://doi.org/10.3390/foods11030263>).

VARATHARAJAN, K.; PUSHPARANI, D. S. Screening of antioxidant additives for biodiesel fuels. **Renewable and sustainable energy reviews**, v.82, p.2017-2028, 2018 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.07.020>).

WANASUNDARA, P. K. J. P. D.; SHAHIDI, F. Antioxidants: Science, Technology, and Applications. **Industrial Oil and Fat Products**, Bailey's 2005 (DOI: <https://doi.org/10.1002/047167849X.bio002>).

WU, Xianli; PRIOR, Ronald L. Systematic Identification and Characterization of Anthocyanins by HPLC-ESI-MS/MS in Common Foods in United States: Fruits and Berries. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.53, p.2589-2599, 2005 (DOI: <https://doi.org/10.1021/jf048068b>).

YAAKOB, Zahira; NARAYANAN, Binitha N; PADIKKAPARAMBIL, Silija; UNNI, Surya. K; AKBAR, Mohammed P. A review on the oxidation stability of biodiesel. **Renewable and Sustainable. Energy Reviews**, v.35, p.136-153, 2014 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.03.055>).

YAMANE, K; KAWASAKI, K; SONE, K; HARA, T; PRAKOSO, T. Oxidation stability of biodiesel and its effects on diesel combustion and emission characteristics. **International Journal of Engine Research**, v.8, n.3, p.307-319, 2007 (DOI: <https://doi.org/10.1243/14680874JER00207>).

YANG, Ping.; YUAN, Chunlong.; WANG, Hua.; HAN, Fuliang.; LIU, Yangjie.; WANG, Lin.; LIU, Yang. Stability of Anthocyanins and Their Degradation Products from Cabernet Sauvignon Red Wine under Gastrointestinal pH and Temperature Conditions. **Molecules**, v.23, p.354, 2018 (DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules23020354>).

YISAK, Hagos.; REDI-ABSHIRO, Mesfin.; CHANDRAVANSI, Bhagwan Singh. New

fluorescence spectroscopic method for the simultaneous determination of alkaloids in aqueous extract of green coffee beans. **Chemistry Central Journal**, v.12, n.59, 2018 (DOI: <https://doi.org/10.1186/s13065-018-0431-4>).

ZULETA, Ernesto C.; BAENA, Libia.; RIOS, Luis A.; CALDERÓN, Jorge A. The oxidative stability of biodiesel and its impact on the deterioration of metallic and polymeric materials: a review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.23, p.2159-2175, 2012 (DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-50532012001200004>).