



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

ANA PAULA HILÁRIO GREGÓRIO

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO
BIODIESEL (B100) DE ÓLEO DE SOJA EM MISTURA COM
EXTRATOS DE PIMENTA, SÁLVIA, FOLHAS DE CAFÉ E DE
BACUPARI**

Londrina
2016

ANA PAULA HILÁRIO GREGÓRIO

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO
BIODIESEL (B100) DE ÓLEO DE SOJA EM MISTURA COM
EXTRATOS DE PIMENTA, SÁLVA, FOLHAS DE CAFÉ E DE
BACUPARI**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de mestre.

Orientador: Prof. Dr. Dionisio Borsato

Londrina
2016

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

Gregório, Ana Paula Hilário.

AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL (B100) DE ÓLEO DE SOJA EM MISTURA COM EXTRATOS DE PIMENTA, SÁLVIA, FOLHAS DE CAFÉ E DE BACUPARI / Ana Paula Hilário Gregório. - Londrina, 2016.
52 f. : il.

Orientador: Dionisio Borsato.

Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2016.
Inclui bibliografia.

1. Biodiesel - Tese. 2. Antioxidantes Naturais - Tese. 3. Delineamento Simplex-Centroide - Tese. 4. Método Rancimat - Tese. I. Borsato, Dionisio. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

ANA PAULA HILÁRIO GREGÓRIO

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL (B100)
DE ÓLEO DE SOJA EM MISTURA COM EXTRATOS DE PIMENTA,
SÁLVA, FOLHAS DE CAFÉ E DE BACUPARI**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de mestre.

BANCA EXAMINADORA

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

Prof. Dr. Edmilson Antonio Canesin
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
UTFPR – Câmpus Apucarana

Prof. Dr. Mario Henrique Montazzolli Killner
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 16 de dezembro de 2016.

À Deus, ao meu orientador, aos meus familiares, especialmente aos meus pais, às quatro Marias e ao meu amado esposo, André.

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente de todo o coração e alma à Deus, todo poderoso, por me conceder o dom da vida e conduzi-la da melhor maneira possível, me proporcionando a oportunidade de colocar algumas pessoas em meu caminho que me torna mais feliz.

À Nossa Senhora do Perpétuo Socorro, pela intercessão junto ao pai diante de todas as minhas necessidades e pedidos atendidos.

À Santa Catarina de Alexandria, protetora dos estudantes, que esteve do meu lado em todos os exames e provações.

À minha grande família, especialmente ao meu digníssimo esposo, André, o amor da minha vida, que sempre me acompanhou em todas as correrias do dia a dia e, não surpreendentemente, me apoiou e amparou em todos os momentos e situações de desesperos, sou eternamente grata e apaixonada.

Aos meus queridíssimos pais, Rose e Jair, que sempre acreditaram em mim, desculpe-me pelas preocupações e muito obrigada pelas orações, sou honrada em ser filha de um casal tão especial.

Às minhas quatro Marias, Eduarda, Vitória, Sofia, e Fernanda, obrigada por simplesmente existirem e à minha irmã Fernanda, pelas constantes correções.

Ao melhor chefe da minha carreira profissional, Dionisio Borsato, pelas orientações de extrema importância neste trabalho e pela dedicação, conversas, conselhos, por acreditar em mim mais do que eu mesma e por me estimar sempre, nunca irei lhe esquecer, mestre.

A todos os professores da pós-graduação que contribuíram para a minha formação profissional.

À Érica, minha companheira de pesquisa, obrigada pela disposição em me ensinar e pelas constantes ajudas.

À Priscila, pelas caronas, conversas e conselhos durante o trajeto Apucarana-Londrina. Você será sempre uma grande amiga.

A todas pessoas especiais que conheci durante a pós-graduação e que jamais esquecerei, especialmente à Mirian e ao David, obrigada pela amizade e companheirismo.

A todos do LAPAC, que fizeram da pós-graduação um momento

agradável para se aprender, Kelly, Diego, Karina, César, Felipe, Hágata, Bruna, Livia e a chefe, Ivanira.

Enfim, à CAPPES, pela concessão da bolsa e ajuda financeira.

O mundo é um livro e aquele que não viaja, lê
apenas uma página.

Santo Agostinho

GREGÓRIO, A. P. H. **Avaliação da estabilidade oxidativa do biodiesel (B100) de óleo de soja em mistura com extratos de pimenta, sálvia, folhas de café e de bacupari.** 2016. 52 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.

RESUMO

O biodiesel é constituído principalmente por ésteres de ácidos graxos insaturados, conferindo-lhe baixa estabilidade oxidativa, sendo assim os antioxidantes naturais apresentam-se como alternativa para prevenir a deterioração oxidativa devido à presença de compostos fenólicos em sua estrutura, capazes de promover ou inativar os radicais livres, através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia do biocombustível. Com a finalidade de inibir o processo oxidativo, foram adicionados ao biodiesel B100, os extratos alcoólicos dos antioxidantes naturais: pimenta, folhas de bacupari, folhas de café arábica e sálvia, isoladamente e em misturas, para determinação do período de indução (PI), fator de proteção relativo (FPR), e dos parâmetros cinéticos, constante de velocidade (k) e energia de ativação (Ea), utilizando o método Rancimat, em diferentes temperaturas 110, 115, 120 e 125 °C. Dentre os parâmetros analisados, utilizou-se como parâmetro comparativo o FPR que mostrou-se eficiente na avaliação da influência dos antioxidantes em proteger o biodiesel B100 das sucessivas reações radicalares. A partir das equações preditivas obtidas pelo delineamento experimental de misturas simplex-centroide, a otimização multirresposta do FPR indicou maior eficiência na proteção da reação de oxidação para a mistura contendo os extratos na proporção de 60% de folhas de café arábica, 25% de sálvia e 15% de pimenta. A análise termogravimétrica dos antioxidantes também foi importante para a interpretação dos resultados experimentais do FPR.

Palavras-chave: Período de Indução. Fator de proteção relativo. Parâmetros Cinéticos. Análise termogravimétrica. Delineamento simplex-centroide.

GREGÓRIO, A. P. H. **Evaluation of the oxidative stability of biodiesel (B100) of soybean oil in a mixture with pepper extract, sage, coffee leaves and bacupari.** 2016. 51 f. Master's (Dissertation in Chemistry) - Londrina State University, Londrina, 2016.

ABSTRACT

Biodiesel consists mainly of esters of unsaturated fatty acids, giving it low oxidative stability, and thus the natural antioxidants are presented as an alternative to prevent oxidative deterioration due to the presence of phenolic compounds in their structure, capable of promoting or inactivating the free radicals, by donating hydrogen atoms to these molecules, disrupting the biofuel's chain reaction. In order to inhibit the oxidative process, the alcoholic extracts of the natural antioxidants: pepper, bacupari leaves, arabica coffee leaves and sage were added to the B100 biodiesel, alone and in mixtures, to determine the period of induction (IP), relative protection factor (RPF), and kinetic parameters, rate constant (k) and activation energy (Ea), using the Rancimat method, at different temperatures 110, 115, 120 and 125 ° C. Among the analyzed parameters, the RPF was used as a comparative parameter, which proved to be efficient in evaluating the influence of antioxidants in protecting B100 biodiesel from successive radical reactions. From the predictive equations obtained by the experimental design of simplex-centroid mixtures, the multiresponse RPF optimization indicated greater efficiency in the protection of the oxidation reaction for the mixture containing the extracts in the proportion of 60% of arabica coffee leaves, 25% of sage and 15% pepper. Thermogravimetric analysis of antioxidants was also important for the interpretation of experimental results of RPF.

Key words: Induction Period. Relative protection factor. Kinetic parameters. Thermogravimetric analysis. Simplex-centroid design.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Esquema da reação de transesterificação do óleo de soja ou gordura em meio ácido ou alcalino.....	16
Figura 2 – Esquema geral do mecanismo da oxidação lipídica.....	18
Figura 3 – Representação da pimenta e estrutura da Capsaicina.....	21
Figura 4 – Ilustração do fruto bacupari (<i>Garcinia gardneriana</i>).	22
Figura 5 – Representação da estrutura química dos biflavonóides presentes na <i>Garcinia Gardneriana</i>	22
Figura 6 – Representação das folhas de café arábica	23
Figura 7 – Estruturas químicas isoladas das folhas de <i>Coffea Arabica</i>	23
Figura 8 – Representação da sálvia e da estrutura do ácido rosmarínico presente em sua composição.....	24
Figura 9 – Equipamento Rancimat Modelo 873 (Metron®)	25
Figura 10 –Esquema de funcionamento do aparelho Rancimat.....	25
Figura 11 –Secagem dos extratos dos antioxidantes naturais à 60 °C em uma chapa aquecedora.....	30
Figura 12 –Esquema para a determinação da constante de velocidade a partir dos dados da condutividade obtidos através do Rancimat.....	32
Figura 13 –Delineamento simplex-centroide para 4 componentes.....	33
Figura 14 –Relação entre a atividade antioxidante e o teor de fenólicos totais.....	35
Figura 15 –Gráfico da Equação de Arrhenius para a reação de oxidação do biodiesel considerando os extratos adicionados isoladamente.	39
Figura 16 –Análise termogravimétrica (TG/DTG) dos extratos liofilizados de (a) pimenta, (b) bacupari, (c) café e (d) sálvia.....	41
Figura 17 –Superfície de resposta do fator de proteção para cada ponto do delineamento experimental para as temperaturas (a) 110°C, (b) 115°C, (c) 120°C e (d) 125°C.....	43
Figura 18 –Otimização do fator de proteção relativo do biodiesel em mistura com antioxidantes naturais em diferentes temperaturas	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – PI para cada ensaio do delineamento simplex-centroide.....	36
Tabela 2 – Constante de velocidade da reação de oxidação do biodiesel.....	38
Tabela 3 – FPR para cada ensaio do delineamento experimental.....	40
Tabela 4 – Dados da análise térmica dos extratos adicionados ao biodiesel B100.....	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Biodiesel B100	Biodiesel puro
DPPH	2,2-diphenil-1-picrilhydrazil
DTH	Termogravimetria Derivada
Ea	Energia de Ativação
EAG	Equivalente a ácido gálico
EN	Européen Normalisation
Eq	Equação
FPR	Fator de Proteção Relativo
PI	Período de Indução
k	Constante de Velocidade
ln	logaritmo neperiano
T	Temperatura
TG	Análise Termogravimétrica
Trolox	6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-ácido carboxílico

Sumário

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	BIODIESEL DE ÓLEO DE SOJA E A SUA REAÇÃO DE OXIDAÇÃO	16
2.2	O EFEITO DOS ANTIOXIDANTES NATURAIS NA REAÇÃO DE OXIDAÇÃO DO BIODIESEL	19
2.2.1	Pimenta	21
2.2.2	Folhas de bacupari	21
2.2.3	Folhas de Café Arábica	23
2.2.4	Sálvia	24
2.3	ESTABILIDADE OXIDATIVA PELO MÉTODO RANCIMAT	24
2.4	PERÍODO DE INDUÇÃO E FATOR DE PROTEÇÃO RELATIVO	26
2.5	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL DE MISTURAS	26
3	OBJETIVOS	28
3.1	OBJETIVO GERAL	28
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
4	MATERIAIS E METÓDOS	29
4.1	REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO	29
4.2	ANTIOXIDANTES	29
4.3	DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS	30
4.4	ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	30
4.5	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA	30
4.6	DETERMINAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA E PERÍODO DE INDUÇÃO	31
4.7	DETERMINAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO RELATIVO (FPR)	31
4.8	DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS CINÉTICOS	31
4.9	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL DE MISTURAS SIMPLEX CENTROIDE	33
4.10	MODELO MATEMÁTICO	33
4.11	ANÁLISE ESTATÍSTICA	34
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35

6	CONCLUSÃO	45
	REFERÊNCIAS	46

1 INTRODUÇÃO

A alta demanda energética e os problemas ambientais produzem a necessidade da busca por fontes de energias limpas e renováveis que substituam os combustíveis de origem fóssil e que contribuam para o desenvolvimento sustentável (FRANCO et al., 2013).

O biodiesel é um dos combustíveis renováveis mais promissores, obtido a partir de uma grande variedade de oleaginosas tais como: mamona, girassol, dendê, algodão, soja e de tantas outras espécies e podem ser provenientes também de gorduras animais, bem como resíduos de óleo utilizado em frituras (KNOTHE et al., 2005). Este combustível tem ganhado cada vez mais espaço no mercado brasileiro, já que o país possui uma grande variedade de clima, solo e recursos hídricos ao longo de toda extensão territorial que proporcionam o incentivo da produção de suas matérias primas (DABDOUB et al., 2009).

A presença de insaturações na composição química da matéria prima do biodiesel, utilizado em motores de ignição por compressão, o torna suscetível a oxidação, acelerada pela presença de íons metálicos, exposição à luz, altas temperaturas, radiação ionizante e agentes oxidantes, de modo a formar peróxidos e outros produtos oxidativos que podem diminuir o seu período de armazenamento e ocasionar problemas no funcionamento dos motores e nas bombas de combustível (BORSATO et al., 2014; SOUZA et al., 2014).

A elevada tendência à oxidação do biodiesel pode tornar-se um fator preocupante, pois o grau de oxidação durante o período de armazenamento irá influenciar na homogeneidade na queima, e conseqüentemente trará um atraso de ignição para os motores de ciclo diesel, por isso a estabilidade oxidativa é um fator essencial no controle da qualidade do biocombustível (DANTAS et al., 2011; ANDRADE et al., 2015).

Para a determinação da estabilidade oxidativa do biodiesel em mistura com antioxidantes o método padrão mais utilizado é o Rancimat, onde óleos e gorduras sofrem decomposição térmica e os produtos formados através do mesmo são arrastados por um fluxo de ar dentro de uma célula de medição abastecida por água destilada. O período de indução (PI) da reação, ou seja, o tempo necessário para se atingir um ponto crítico de oxidação é determinado pela alteração da condutividade que estes materiais causam na água destilada que retém os ácidos

voláteis liberados durante a oxidação do combustível (SILVA et al., 2015; WAZILEWSKI et al., 2013).

Os antioxidantes, de origens sintéticas ou naturais, podem ser adicionados para prevenir a deterioração oxidativa de derivados dos ácidos graxos, uma vez que são substâncias capazes de retardar ou reduzir a velocidade de oxidação (POLAVKA et al., 2005; RAMALHO; JORGE, 2006).

O aumento do PI por meio da adição de um antioxidante tem sido relacionado à eficiência do antioxidante na inibição da reação de degradação do biodiesel e óleos vegetais, que pode ser expresso por meio do fator de proteção relativo (FPR) (SPACINO et al., 2016). Este parâmetro foi avaliado por meio do delineamento experimental de mistura simplex-centroide proposto por Scheffé (SCHEFFÉ, 1963), porque esta ferramenta permite avaliar a influência dos componentes individuais bem como as suas misturas em diferentes proporções (BORSATO et al., 2010; CINI et al., 2013).

Os parâmetros cinéticos da reação de oxidação, obtidos pelos dados fornecidos pelo Rancimat, também podem ser utilizados para avaliar o efeito de antioxidantes na inibição do processo oxidativo e explicar os resultados do PI e conseqüentemente do FPR (SPACINO et al., 2016; GALVAN et al., 2013). Conhecer e determinar o mecanismo de oxidação do biodiesel utilizando parâmetros cinéticos é muito importante para as indústrias em termos de custo e tempo de gestão para a produção industrial. No entanto, há poucos estudos na literatura sobre a cinética da reação de oxidação do biodiesel utilizando o método da estabilidade oxidativa pelo equipamento Rancimat (GALVAN et al., 2013).

Portanto, no presente trabalho foi avaliado a estabilidade oxidativa do biodiesel pelo método Rancimat, em diferentes temperaturas, propiciando a determinação do PI e FPR, bem como os parâmetros cinéticos, constante de velocidade (k) e energia de ativação (E_a), do biodiesel em mistura com extratos dos antioxidantes naturais: pimenta (*Capsicum sp*), folhas de bacupari (*Garcinia gardneriana*), folhas de café arábica (*Coffea sp*) e sálvia (*Salvia officinalis*), em diferentes proporções. Será realizada a interpretação dos dados da análise termogravimetria dos antioxidantes naturais para justificar os resultados experimentais do FPR avaliado pelo delineamento experimental de misturas simplex-centroide para a otimização dos resultados.

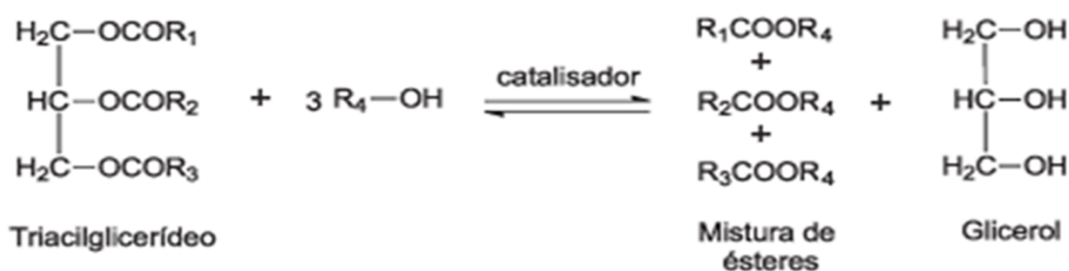
2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 BIODIESEL DE ÓLEO DE SOJA E A SUA REAÇÃO DE OXIDAÇÃO

O desenvolvimento de combustíveis alternativos, a partir de fontes energéticas renováveis, tornou-se uma atividade corrente da comunidade científica em todos os países, a fim de minimizar a dependência dos combustíveis oriundos do petróleo na busca pela redução da poluição atmosférica e menor impacto ambiental (MASSONI et al., 2015; BASHA et al., 2009, DEMIRBAS, 2007).

O biodiesel aparece como uma das alternativas para substituir o óleo diesel e reduzir a poluição através da diminuição das emissões de gases poluentes (GERIS et al., 2007). Este combustível constitui-se em uma mistura de ésteres alquílicos de ácidos graxos, produzido pela reação de transesterificação a partir de óleo vegetal e/ou gordura animal com álcoois de cadeia curta, na presença de um catalisador, normalmente uma base forte, como o hidróxido de sódio ou potássio, ou ainda um ácido como mostra a figura 1 (BORSATO et al., 2010).

Figura 1 – Esquema da reação de transesterificação do óleo de soja ou gordura em meio ácido ou alcalino (RAMOS et al., 2013).



Apesar deste biocombustível fornecer em torno de 10% menos energia que o diesel de petróleo, ele tem um desempenho no motor, no que diz respeito à potência e ao torque, muito próximo ao combustível fóssil, e possui algumas características que representam algumas vantagens sobre os combustíveis oriundos do petróleo como:

- Apresentar caráter não tóxico, ser biodegradável e proveniente de diferentes fontes renováveis;
- Melhor lubrificação que o diesel mineral;
- Miscibilidade com o petrodiesel;
- Menor emissão de partículas como hidrocarbonetos (HC), monóxido de carbono (CO) e dióxido de carbono (CO₂);
- Virtualmente livre de enxofre e de compostos aromáticos;
- Minimizar as dependências de importações de petróleo do país;
- Substituir o diesel nos motores sem necessidade de adaptações;
- Contribuir para a geração de empregos e renda para o campo e entre outros (BORSATO et al., 2014; COPPO et al., 2014; GALVAN et al., 2013).

A lei nº 13.033, de 24 de setembro de 2014, dispõe sobre a adição obrigatória de biodiesel ao óleo diesel comercializado com o consumidor final. Desde 1º de novembro de 2014, o óleo diesel comercializado em todo o Brasil contém 7% de biodiesel. Esta regra foi estabelecida pelo Conselho Nacional de Política Energética (CNPE), que aumentou de 5% para 7% o percentual obrigatório de mistura de biodiesel ao óleo diesel. A contínua elevação do percentual de adição de biodiesel ao diesel demonstra o sucesso do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB), programa do Governo Federal, criado em 2004, que objetiva a implementação de forma sustentável, tanto técnica, como econômica, da produção e uso do biodiesel, com enfoque na inclusão social e no desenvolvimento regional, por meio da geração de emprego e renda (BRASIL, 2015).

Atualmente a lei nº 13.263, de março de 2016 altera a lei 13.033, descrita acima, que passa a vigorar com algumas alterações, na qual são estabelecidos os seguintes percentuais de adição obrigatória, em volume, de biodiesel ao óleo diesel vendido ao consumidor final, em qualquer parte do território nacional:

- I- 8% (oito por cento), em até doze meses após a data de promulgação desta Lei;
- II- 9% (nove por cento), em até vinte e quatro meses após a data de promulgação desta Lei;

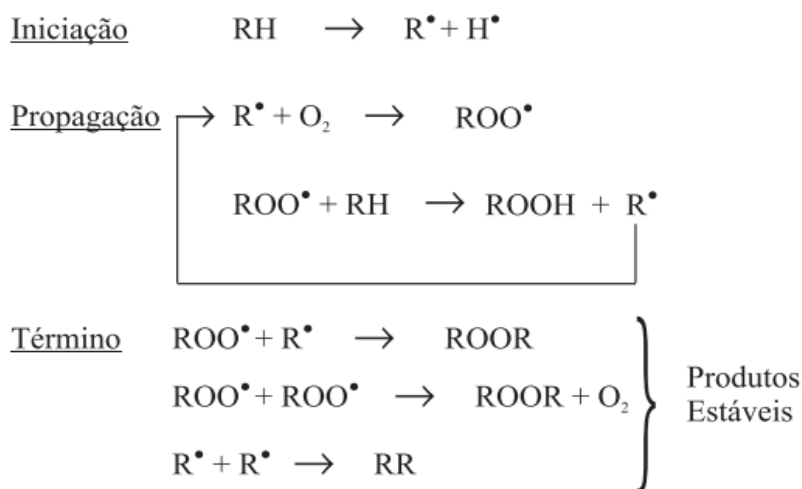
III-10% (dez por cento), em até trinta e seis meses após a data de promulgação desta Lei (BRASIL, 2016).

Embora o futuro do biodiesel seja promissor, alguns obstáculos de comercialização ainda estão presentes, como o preço da matéria-prima, o custo operacional e também problemas tecnológicos que devem ser enfrentados, que vão desde a necessidade de encontrar uma fonte de matéria-prima para extração do óleo, que seja viável economicamente e tecnologicamente, até a preocupação com a caracterização do produto final (FERRARI et al., 2005; ARAUJO et al., 2011).

Atualmente, a maior parte da produção de biodiesel no Brasil utiliza, como matéria prima, o óleo de soja que apresenta alto grau de insaturação em sua composição, característica química indesejável que é incorporada ao biocombustível, favorecendo os processos de oxidação que conduz à formação de aldeídos, cetonas, ácidos, peróxidos, hidroperóxidos, polímeros, que modificam as propriedades físico-químicas do biodiesel e diminuem a sua estabilidade oxidativa (KNOTHE, 2007; ARAUJO et al., 2011; BORSATO et al., 2012).

A oxidação do biodiesel de óleo de soja é proveniente de sucessivas reações radicalares que ocorrem nas insaturações dos ésteres das cadeias dos ácidos graxos. O processo de reação em cadeia ocorre em três etapas: iniciação, propagação e terminação, como mostra a figura 2 (BERSET; CUVELIER, 1996).

Figura 2 – Esquema geral do mecanismo da oxidação lipídica (RAMALHO; JORGE, 2006).



onde: RH - Ácido graxo insaturado; R^\bullet - Radical livre;
 ROO^\bullet - Radical peróxido e ROOH - Hidroperóxido

Na fase da iniciação, as moléculas do óleo de soja se convertem em radicais gordurosos livres que reage com o oxigênio (estado triplete) formando o hidroperóxido. Diversos agentes, como a luz (especialmente na faixa do UV), calor e íons de metais pesados (principalmente cobre e ferro) são os principais iniciadores do processo de auto oxidação. Durante a etapa de propagação, especialmente em presença de agentes catalíticos, a decomposição dos hidroperóxidos em radical alcóxi e hidróxi, conduz à formação de uma grande variedade de aldeídos, cetonas, ácidos, álcoois, e outros radicais livres que dão continuidade à reação. A finalização da reação em cadeia se produz quando os radicais livres são desativados ou destruídos (RAMALHO; JORGE, 2006; BRUGAGNOLO; MARIUTU, 2007).

Portanto, inúmeros estudos devem ser realizados para que o biodiesel possa ser mantido durante um período de armazenamento maior sem que haja a formação de produtos de oxidação que possam causar danos ao motor ou diminuir sua qualidade como combustível impedindo a sua expansão no mercado (BORSATO et al., 2014; FATTAH et al., 2014).

2.2 O EFEITO DOS ANTIOXIDANTES NATURAIS NA REAÇÃO DE OXIDAÇÃO DO BODIESEL

No biodiesel, a ação dos agentes antioxidantes é capturar os radicais livres formados durante as etapas de iniciação e propagação para gerar produtos estáveis e aumentar o período de armazenamento retardando a velocidade de degradação do combustível (JORGE; GONÇALVES, 1998).

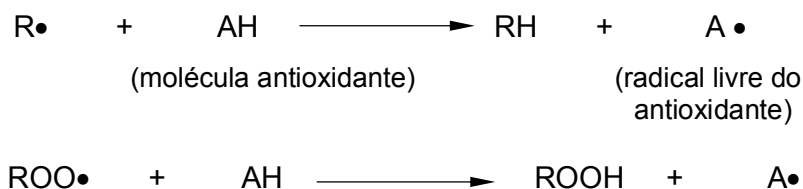
Os compostos antioxidantes naturais têm sido isolados de diferentes partes de plantas tais como, sementes, frutas, folhas e raízes. Esses compostos incluem flavonóides, ácidos fenólicos, carotenóides, terpenos, tocoferóis mixados, fosfolipídios e ácidos orgânicos polifuncionais, em sua estrutura química contendo grupos aminas ou hidroxilas com elétrons de valência livres mais eletroativos que os ácidos graxos insaturados na estrutura do biodiesel (MONYEM; GERPEN, 2001; KAUR; KAPOOR, 2001).

O efeito do antioxidante sobre a inibição de auto oxidação do biodiesel depende de muitos fatores, como por exemplo, a estrutura do antioxidante, condições de armazenamento, natureza/composição da amostra a ser oxidada (FATTAH et al., 2014).

O uso de antioxidantes e seus mecanismos funcionais têm sido amplamente estudados e podem ser classificados em primários, sinérgicos, removedores de oxigênio, biológicos, agentes quelantes e antioxidantes mistos (RAMALHO; JORGE, 2006).

Entre os antioxidantes presentes nos vegetais, os mais ativos e frequentemente encontrados apresentam grupos fenólicos, classificados como antioxidantes primários, que agem como antioxidantes não somente pela sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons, mas também por causa de seus radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação de ácidos graxos e de óleos (CUVELIER et al., 1992; MAILLARD et al., 1996).

Como a reação em cadeia da auto oxidação do biodiesel se inicia e se propaga mediante a formação de radicais livres, sua desativação ou remoção pela adição de antioxidantes primários, ocorre através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas (SIMIC; JAVANOVIC, 1994), como mostra o mecanismo proposto por Frankel (1996).



Onde: ROO• e R• representam os radicais livres; AH o antioxidante com um átomo de hidrogênio e A• radical inerte.

O átomo de hidrogênio ativo do antioxidante é abstraído pelos radicais livres ROO• e R• com maior facilidade do que os hidrogênios alílicos das moléculas insaturadas. Assim, formam-se espécies inativas para a reação em cadeia e um radical inerte (A•) procedente do antioxidante. Este radical, estabilizado por ressonância não tem capacidade de iniciar ou propagar as reações oxidativas. É de suma importância que o radical livre antioxidante assim formado não tenha capacidade para iniciar ou propagar a reação de oxidação (RAMALHO; JORGE, 2006).

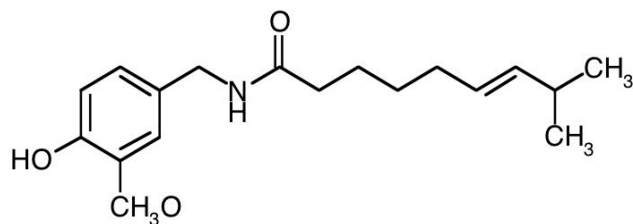
O uso de antioxidantes naturais apresenta-se como alternativa bastante viável para retardar o processo de degradação oxidativa do biodiesel, pois

os compostos naturais não causam danos ao meio ambiente e são facilmente obtidos (POKORNY, 2007; SOUZA et al., 2014). No entanto, poucos autores têm empregado os antioxidantes naturais em biodiesel por serem menos eficientes quando comparados com os sintéticos (SPACINO et al., 2015).

2.2.1 Pimenta

A *Capsicum frutescens* L., vulgarmente conhecida como pimenta vermelha, é usada mundialmente como um condimento natural em alimentos, devido ao seu sabor único e pungência. Além da grande utilização como tempero e seus efeitos analgésicos reconhecidos, as pimentas exibem uma extensa gama de propriedades fisiológicas e farmacológicas, como propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e hipocolesterolêmicas provavelmente associadas à presença de capsaicinóides, caretonóides, ácido ascórbico, vitamina A, tocoferóis, polifenóis e outros compostos (KAPPEL et al., 2008; LÓPEZ et al., 2011; ARORA et al., 2011). A pungência ou ardume é o principal atributo das pimentas e está diretamente relacionada com a concentração dos capsaicinóides, na qual destaca-se a capsaicina como a mais importante deste grupo (Figura 3).

Figura 3 – Representação da pimenta e estrutura da Capsaicina



2.2.2 Folhas de bacupari

A *Garcinia gardneriana* pode ser encontrada sob a sinonímia botânica de *Rhedia gardneriana*, da família Guttiferae. Popularmente, é conhecida como “bacupari”, “bacopari”, “bacupary miúdo” ou “mangostão amarelo”. Trata-se de uma árvore de porte médio, nativo do interior da mata atlântica, com folhas opostas,

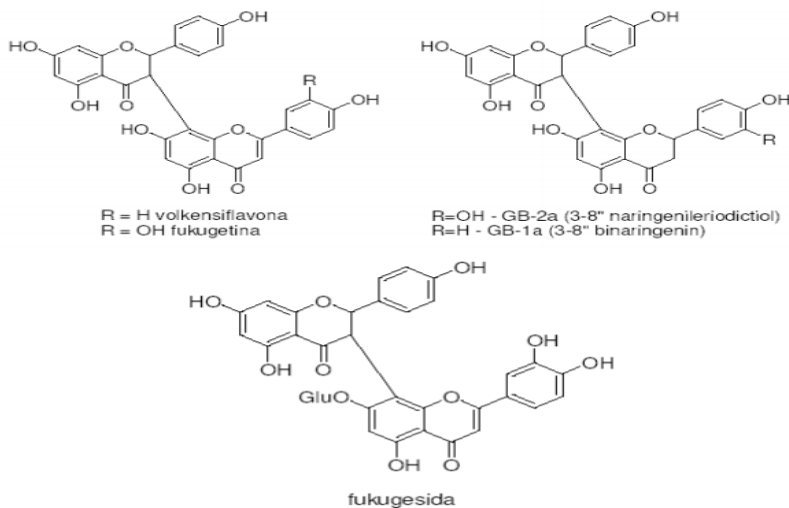
pecioladas, que floresce nos meses de agosto a setembro, sendo seu fruto amarelo com polpa mucilaginosa, branca e comestível (Figura 4) (BERNARDI, 2009).

Figura 4 – Ilustração do fruto bacupari (*Garcinia gardneriana*).



Estudos fitoquímicos realizados com a *Garcinia gardneriana* revelaram a presença de diversas xantonas, os triterpenos lupeol e betulina, e o esteróide β -sitosterol, nas cascas e madeira da planta (BRAZ FILHO et al., 1970; DELLE MONACHE et al., 1984). Ainda foram identificados flavonóides como os biflavonóides volkensiflavona, 13- naringenina-118-eriodictiol (GB-2a), fukugetina, presentes principalmente nas suas folhas (BOTTA et al., 1984), onde também existem fukugesida (RODRIGUES et al., 2000), implicados como os principais constituintes químicos responsáveis pelas propriedades analgésicas desta planta (CECHINEL FILHO et al., 2000) (Figura 5).

Figura 5 – Representação da estrutura química dos biflavonóides presentes na *Garcinia Gardneriana* (CASTARDO et al., 2008).



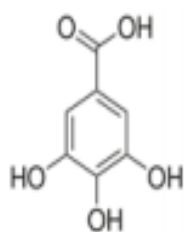
2.2.3 Folhas de Café Arábica

O cafeeiro (*Coffea arábica* L.) é uma das principais plantas cultivadas no país, destacando-se econômica e socialmente (ECCARDI; SANDALJ, 2003). Diante de sua rápida adaptação ao solo e clima, o produto adquiriu importância no mercado brasileiro transformando-se em um dos principais itens de exportação do país (MATIELLO, 1998). Entre os compostos presentes no café, destacam-se os grupos fenólicos que são originados do metabolismo secundário, sendo essenciais para o crescimento e reprodução (NACZK; SHAHIDI, 2004). No entanto, grande parte dos estudos referentes à composição química do café está relacionada ao grão e pouco se sabe sobre os compostos químicos presentes em suas folhas. Em um recente trabalho de Silva (2015) foi possível identificar nas folhas de *Coffea Arábica* (Figura 6) o ácido clorogênico, ácido cafeico e o ácido gálico (Figura 7).

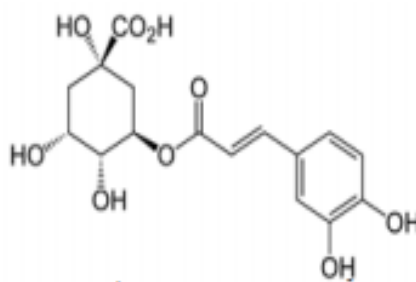
Figura 6 – Representação das folhas de café arábica



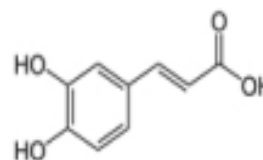
Figura 7 – Estruturas químicas isoladas das folhas de *Coffea Arabica* (SILVA, 2015).



Ácido Gálico



Ácido Clorogênico

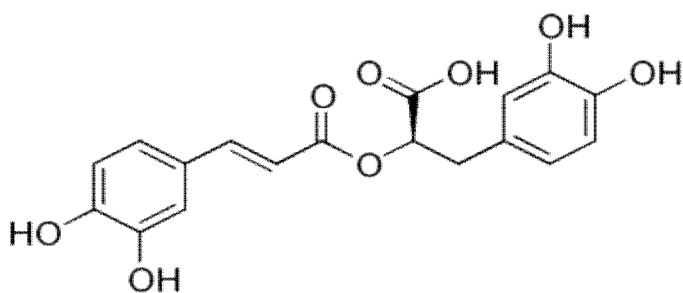


Ácido Cafeico

2.2.4 Sálvia

A sálvia pertence à família *Lamiaceae* tendo sido extensivamente estudada e reconhecida por sua capacidade antioxidante relacionada aos seus grupos fenólicos (MADSEN; BERTELSEN, 1995, WONG et al., 1995). Cuvelier *et al* (1994) identificaram os constituintes antioxidantes da sálvia como sendo carnosol, rosmadial, ácido carnosínico, ácido rosmarínico (Figura 8) e epirosmanol, compostos notadamente conhecidos por suas propriedades antioxidantes.

Figura 8 – Representação da sálvia e da estrutura do ácido rosmarínico presente em sua composição.



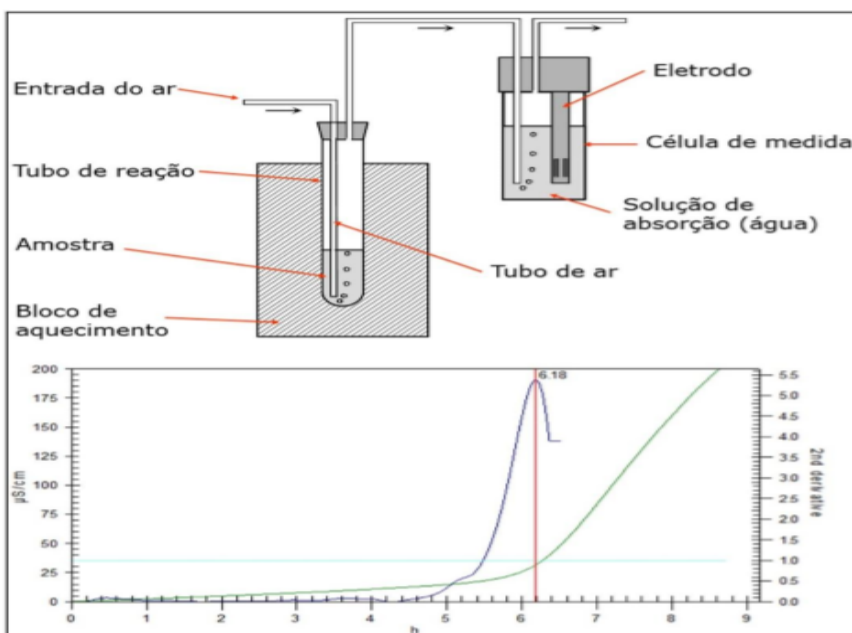
2.3 ESTABILIDADE OXIDATIVA PELO MÉTODO RANCIMAT

O teste Rancimat é um método amplamente utilizado, desenvolvido por Hadorn e Zurcher, e em condições de temperatura elevada, sob um fluxo de ar constante, há formação de compostos voláteis, produtos da degradação do biodiesel, que provocam um súbito aumento na condutividade do meio, sendo possível detectar o período de indução (PI) que corresponde ao ponto de inflexão das curvas do gráfico da condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1}$) versus o tempo (s) registrado automaticamente pelo equipamento (GALVAN et al., 2013). A figura 9 representa o aparelho Rancimat e a figura 10 o esquema de funcionamento do equipamento.

Figura 9 – Equipamento Rancimat Modelo 873 (Metron®)



Figura 10 – Esquema de funcionamento do aparelho Rancimat.



Na figura acima, a linha verde representa os valores da condutividade elétrica à medida em que passa o tempo em que a amostra é submetida ao aquecimento acelerado, e a linha azul, a 2° derivada, que permite uma melhor visualização do PI, enquanto que, as linhas azul claro e vermelho são geradas pelo próprio software do equipamento Rancimat quando se determina automaticamente o valor de PI (GALVAN et al, 2014).

2.4 PERÍODO DE INDUÇÃO E FATOR DE PROTEÇÃO RELATIVO

O PI é um parâmetro comparativo utilizado para o controle de qualidade do biodiesel, matérias-primas e de processos para se avaliar diferentes tipos de óleos para fritura, alterações na composição em ácidos graxos, eficiência da adição de antioxidantes, entre outros (KNOTHE, 2007; SPACINO et al., 2016; GALVAN et al., 2014).

O alto teor de ésteres de ácidos graxos insaturados na composição química do biodiesel B100, facilita sua oxidação conduzindo a baixos valores do PI, cujo valor mínimo deve ser superior a 6 h, a 110 °C para atender as especificações estabelecidas pela norma EN14112 (KNOTHE, 2007; EN 14112; YANG et al., 2013).

O FPR é definido pela razão entre o PI das amostras contendo biodiesel em mistura com antioxidantes naturais e o PI do controle (biodiesel sem adição antioxidantes), e tem sido usado em alguns estudos para avaliar a eficiência de antioxidantes naturais na inibição do processo oxidativo do biodiesel e óleos vegetais (SPACINO et al., 2016).

2.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL DE MISTURAS

O desenvolvimento de qualquer produto envolvendo mais de um componente requer algumas formas particulares de experimentos de mistura.

Delineamentos de experimentos são uma base de conhecimento fundamentada em estatística e outras disciplinas científicas, para planejamentos eficientes e efetivos de experimentos e para fazer inferências significativas sobre os dados experimentais, é uma ferramenta usada para otimizar sistemas e processos, acelerar o ciclo de desenvolvimento, reduzir os custos e solucionar problemas de fabricação, como por exemplo o delineamento de misturas proposto por Scheffé (SCHEFFÉ, 1963), o simplex-centroide, muito utilizado porque ele permite avaliar a influência dos componentes individuais bem como as suas misturas, fazendo com que toda a região experimental seja explorada (HILL; LEWICKI, 2006; CINI et al., 2013). Nestes ensaios, dois ou mais componentes são misturados em várias proporções e as características dos produtos resultantes são registradas. As respostas dependem somente das proporções dos componentes presentes na mistura e não da sua quantidade absoluta (BREITKREITZ et al., 2009; CORNELL,

2002). Além disso, esses delineamentos geram equações preditivas que permitem a aplicação de algoritmos matemáticos que possibilitam determinar as condições ótimas de uma formulação ou de um processo industrial, mesmo aqueles que envolvem mais de uma variável dependente e ainda com restrições (DERRINGER; SUICH, 1980).

Este delineamento é visto como uma tecnologia de qualidade para se atingir a excelência de um produto, sendo um instrumento usado para otimizar sistemas e processos, acelerar o ciclo de desenvolvimento, reduzir os custos e solucionar problemas de fabricação (CINI et al., 2013).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a eficiência de extratos de antioxidantes naturais como pimenta, folhas de bacupari, folhas de café arábica e sálvia em diferentes proporções, isolados ou em misturas, quando adicionados ao biodiesel B100 obtido a partir do óleo de soja.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a estabilidade oxidativa do biodiesel, em mistura com extratos alcoólicos de antioxidantes naturais pelo método Rancimat, em diferentes temperaturas;
- Analisar o PI e o FPR, utilizando como ferramenta o delineamento experimental de misturas simplex-centroide;
- Determinar os parâmetros cinéticos, energia de ativação (E_a) e constante de velocidade (k), da mistura do biodiesel obtido com os antioxidantes naturais;
- Caracterizar os extratos por análise termogravimétrica, a fim de justificar os resultados do FPR e PI obtidos.

4 MATERIAIS E METÓDOS

4.1 REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO

A reação de transesterificação dos triglicerídeos do óleo de soja sem antioxidantes sintéticos foi efetuada com metanol absoluto, grau analítico, utilizando como catalisador o metóxido de sódio na concentração de $0,8\text{g } 50\text{ mL}^{-1}$ de álcool metílico sob refluxo e agitação lenta durante duas horas à $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, de acordo com Borsato *et al* (2010). Para promover a separação do glicerol, triglicerídeos e os álcoois presentes, separou-se as fases em um funil de separação de 250 mL (BORSATO *et al.*, 2010). Os ésteres obtidos foram lavados com solução aquosa contendo 1,5% de ácido clorídrico, à $80\text{ }^{\circ}\text{C}$, e, em seguida, com água a mesma temperatura até o pH neutro e desumidificados com sulfato de sódio anidro (DIAS *et al.*, 2014).

4.2 ANTIOXIDANTES

Para a preparação dos extratos alcoólicos dos antioxidantes naturais: pimenta, folhas de bacupari, folhas de café arábica e sálvia, pesou-se 10 g de cada amostra desidratada, separadamente, e adicionou-as em 250 mL de etanol absoluto misturando ambos com auxílio de um bastão de vidro. Esta mistura foi mantida durante 48 h em repouso e os extratos foram submetidos à filtração. Evaporou-se os filtrados com auxílio de uma chapa aquecedora até a obtenção de aproximadamente 50 mL a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, onde foram transferidos para balões volumétricos de 50 mL e aferidos com etanol absoluto como mostra a figura 11 (COPPO *et al.*, 2014).

Figura 11 – Secagem dos extratos dos antioxidantes naturais à 60 °C em uma chapa aquecedora.



4.3 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin Ciocalteu utilizando ácido gálico como padrão de referência. O reagente de Folin Ciocalteu é uma solução de íons complexos poliméricos formados a partir de heteropoliácidos fosfomolibdicos e fosfotungsticos. A leitura foi realizada à 760 nm em espectrofotômetro, seguindo a metodologia adaptada por Kumazawa *et al* (2004), sendo o teor de polifenóis totais expresso em mg equivalente a Ácido Gálico (SIGMA-ALDRICH) (EAG) g⁻¹ massa seca.

4.4 ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Seguindo a metodologia de Casagrande *et al* (2007) e Georgetti *et al* (2008) a avaliação quantitativa da atividade antioxidante foi realizada monitorando-se o consumo do radical livre DPPH (2,2-diphenil-1-picrilhydrazil) (SIGMA-ALDRICH) pelas amostras, através da medida do decréscimo da absorbância utilizando o espectrofotômetro UV-Vis à 517 nm, tendo como padrão o Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-ácido carboxílico) (SIGMA-ALDRICH). Os resultados da atividade antioxidante foram expressos como capacidade antioxidante total equivalente ao Trolox.

4.5 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

A análise termogravimétrica foi realizada através do equipamento Thermogravimetric Analyzer PerkinElmer, modelo TGA 4000. O fluxo de gás

nitrogênio (N₂) foi de 20 ml min⁻¹, iniciando em 25 °C até 600 °C em razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹.

4.6 DETERMINAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA E PERÍODO DE INDUÇÃO

As amostras de 3 g de biodiesel, contendo as quantidades dos extratos dos antioxidantes naturais, isentos de álcool, estabelecidas pelo delineamento simplex-centroide, bem como as amostras controle, foram levadas ao aquecimento acelerado no equipamento Rancimat modelo 873 (METROHM® - HERISAU / SWITZERLAND), em triplicata, com taxa de insuflação de ar de 10 L h⁻¹, em temperaturas de 110, 115, 120 e 125 °C, em concordância com a norma oficial EN 14112 (COPPO et al., 2014; EN14112).

4.7 DETERMINAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO RELATIVO (FPR)

O FPR foi determinado a partir da razão entre a estabilidade oxidativa do biodiesel B100 contendo o antioxidante e da amostra controle (SPACINO et al., 2016).

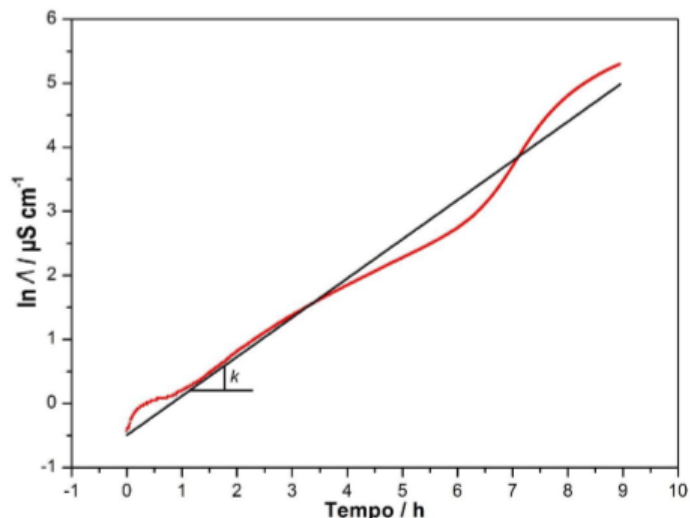
4.8 DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS CINÉTICOS

Com os dados ajustados do logaritmo neperiano (ln) da condutividade elétrica versus o tempo, fornecidos pelo Rancimat, determinou-se graficamente as constantes de velocidade (k) como mostra a figura 12, considerando a reação de primeira ordem devido à alta concentração de oxigênio em comparação com a quantidade de óleo na amostra. De acordo com a equação 1, o coeficiente angular corresponde à constante de velocidade (k) da reação de oxidação do biodiesel (TAN et al., 2001).

$$\ln \Lambda^0 = k(t_f - t_i) + \ln \Lambda \quad \text{Eq. 1}$$

Onde Λ é a condutividade no tempo t ; Λ^0 é a condutividade inicial, e t_i e t_f correspondem ao tempo inicial e final, respectivamente.

Figura 12 – Esquema para a determinação da constante de velocidade a partir dos dados da condutividade obtidos através do Rancimat (Galvan, 2014).



Na figura 12, a linha em vermelho representa os valores de ln da condutividade elétrica pelo tempo, registrada pelo equipamento à medida que a amostra é submetida ao teste, enquanto que, a linha preta representa a regressão desses valores, que permitem a obtenção da inclinação da reta (k).

Para obter a energia de ativação da reação de oxidação do biodiesel, utilizou-se a equação proposta por Arrhenius.

$$k = A e^{-E_a/RT} \text{ ou } \ln k (T) = \ln A - \frac{E_a}{RT} \quad \text{Eq.2}$$

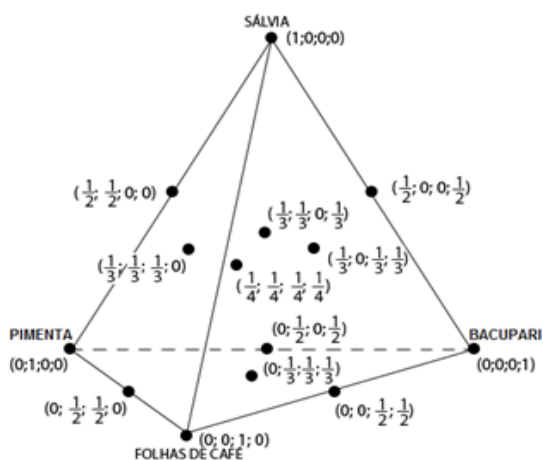
Onde k é a constante de velocidade (h⁻¹), A é o fator pré exponencial (h⁻¹), E_a a energia de ativação (kJ mol⁻¹), R é a constante universal dos gases ideais (8,31447 J K⁻¹ mol⁻¹) e T a temperatura absoluta (K).

A partir da lei de Arrhenius, o gráfico de ln k versus T⁻¹ fornece uma linha reta, onde o coeficiente linear corresponde ao A e o angular a -E_a/R (BALL, 2006).

4.9 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL DE MISTURAS SIMPLEX CENTROIDE

Utilizou-se o planejamento simplex-centroide (Figura 13), com 2^{q-1} combinações de misturas onde q é o número de componentes ou variáveis cuja soma é 1 ou 100%, para 4 componentes com duas repetições no ponto central (CALADO; MONTGOMERY, 2003).

Figura 13 – Delineamento simplex-centroide para 4 componentes.



4.10 MODELO MATEMÁTICO

A função utilizada foi do tipo:

$$Y = \sum_{1 \leq i \leq q} \beta_i x_i + \sum_{1 \leq i \leq j \leq q} \beta_{ij} x_i x_j + \sum_{1 \leq i \leq j \leq l \leq q} \beta_{ijl} x_i x_j x_l \quad \text{Eq.3}$$

Em que, Y representa a variável dependente obtida das respostas dos dados experimentais (FPR) e x_i , x_j , x_l e x_q são as variáveis independentes e correspondem, respectivamente à proporção dos extratos secos de pimenta, folhas de bacupari, folhas de café arábica e sálvia (CORNELL, 1990).

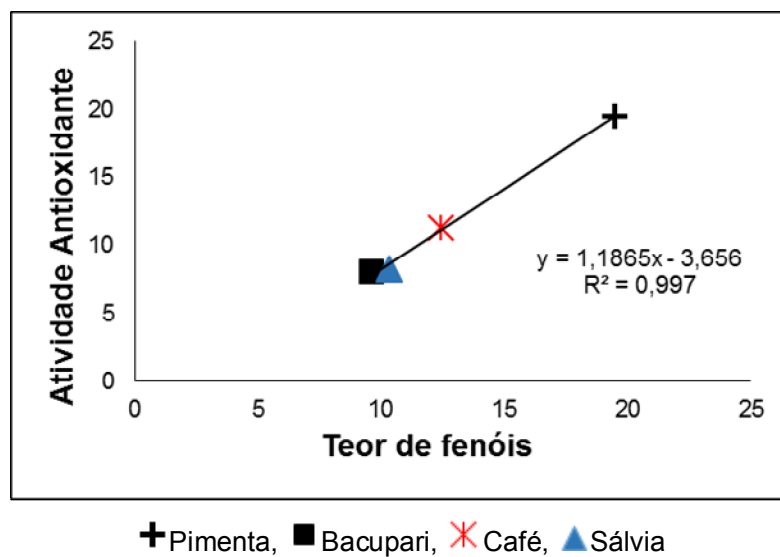
4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os parâmetros estatísticos dos modelos matemáticos, os coeficientes de determinação (R^2), a análise de variância (ANOVA) e a otimização multirresposta foram estimados utilizando o software Statistica v.9.0 (STATISTICA, 2009).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Realizou-se previamente o método de Folin Ciocalteu e o método do sequestro de radicais livres com DPPH, para analisar o teor de fenóis totais e a atividade antioxidante dos extratos alcoólicos, respectivamente. O teor de fenóis totais, expresso em equivalente em ácido gálico, nos extratos alcoólicos de pimenta, bacupari, folhas de café arábica e sálvia foi respectivamente 19,488, 9,627, 12,472 e 10,367 $\text{mg}_{\text{EAG}} \text{g}^{-1}_{\text{massa seca}}$, com atividade antioxidante, expressa em mg de Trolox, de 19,466, 8,063, 11,246 e 8,243 $\text{mg}_{\text{Trolox}} \text{g}^{-1}_{\text{massa seca}}$, obtendo uma relação linear entre o teor de fenóis e a atividade antioxidante com um coeficiente de determinação (R^2) igual a 0,997, como mostra a figura 14.

Figura 14 – Relação entre a atividade antioxidante e o teor de fenólicos totais.



A correlação entre o teor de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante ainda é bastante controversa. Em várias frutas e hortaliças, é possível estabelecer boa correlação entre estas duas variáveis, no entanto, em alguns casos, essa correlação apresenta-se baixa, isto pode acontecer devido a presença de vários outros fitoquímicos, como as antocianinas ou vitaminas que podem influenciar na atividade antioxidante (VIZZOTTO et al., 2012). As propriedades antioxidantes estão muito relacionadas ao tipo de fruta, ou seja, espécie ou cultivares dentro da mesma espécie, e às condições de cultivo das plantas, como ambiente e técnicas de manejo (SCALZO et al., 2005), além do grau de maturidade na colheita, sendo que,

quanto mais maduras as frutas, menor o teor de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante, por isso, podem ser encontrados valores diferentes na literatura de teor de fenóis e atividade antioxidante (WANG; LIN, 2000; CASTREJON et al., 2008).

Em cada amostra de biodiesel foi adicionado um volume de extrato contendo 2,56 mg de fenóis 100 g⁻¹ de biodiesel, após total evaporação do álcool etílico e antes da avaliação da estabilidade oxidativa. Esta concentração foi determinada por ensaios preliminares de estabilidade oxidativa a 110° C, conforme orientações de Coppo *et al* (2014) e Spacino *et al* (2016), a fim de atingir um valor de PI maior que 6 horas.

As amostras do biodiesel B100, em mistura com os extratos em diferentes proporções, bem como o controle, isento de antioxidantes sintéticos, foram submetidas ao teste acelerado de estabilidade oxidativa pelo método Rancimat nas temperaturas de 110, 115, 120 e 125°C para a determinação do PI (SPACINO et al., 2015; GALVAN et al., 2014; KNOTHE, 2007). A tabela 1 mostra o PI para cada ensaio do delineamento experimental de mistura simplex-centroide em diferentes temperaturas.

Tabela 1 – PI para cada ensaio do delineamento simplex-centroide.

Ensaio	Misturas*	PI/h			
		110 °C	115 °C	120 °C	125 °C
1	(1,0,0,0)	5,41	3,75	3,03	2,07
2	(0,1,0,0)	6,65	4,47	3,24	2,17
3	(0,0,1,0)	7,30	5,05	3,64	2,53
4	(0,0,0,1)	6,86	4,97	3,41	2,47
5	(½,½,0,0)	6,02	4,75	3,16	2,44
6	(½,0,½,0)	7,25	5,03	3,79	2,49
7	(½,0,0,½)	6,74	4,68	3,51	2,36
8	(0,½,½,0)	7,13	5,00	3,39	2,35
9	(0,½,0,½)	6,93	4,70	3,14	2,35
10	(0,0,½,½)	7,68	5,28	3,45	2,58
11	(⅓,⅓,⅓,0)	7,16	4,81	3,48	2,34
12	(⅓,⅓,0,⅓)	6,99	4,47	3,15	2,31
13	(⅓,0,⅓,⅓)	7,48	5,18	3,68	2,42
14	(0,⅓,⅓,⅓)	7,01	4,73	3,51	2,44
15	(¼,¼,¼,¼)	7,03	5,03	3,53	2,42
16	(¼,¼,¼,¼)	7,06	4,84	3,56	2,48
17	(¼,¼,¼,¼)	7,32	4,67	3,59	2,46
Controle	--	3,37	2,57	1,82	1,37

* Proporção dos extratos de pimenta, folhas de bacupari, folhas de café arábica e sálvia.

De acordo com a tabela 1, a adição dos extratos ao biodiesel aumentou o PI em todos os ensaios, quando comparados com o controle, e com o aumento da temperatura de oxidação ocorreu uma redução do PI.

Segundo Ferrari *et al* (2005), o biodiesel produzido a partir de óleo de soja apresenta aproximadamente 84 %(m/m) de ácidos graxos com insaturações, o que explica a baixa estabilidade apresentada pela amostra controle.

O extrato de pimenta utilizado isoladamente (ensaio 1), apresentou o menor valor de PI em todas as temperaturas do ensaio experimental, indicando um efeito protetor inferior quando comparado com os outros antioxidantes naturais, e ainda, a 110 °C, apresentou um valor de PI menor que o mínimo estabelecido, apesar do mesmo apresentar um alto teor de fenóis. Embora as evidências sejam claras sobre a ação dos fenóis e polifenóis sobre espécies reativas de oxigênio, eles podem, em algumas circunstâncias, tal como o ascorbato e os carotenóides, apresentarem ação pró-oxidante (FARAH; DONANGELO, 2006), e como descrito anteriormente, a pimenta apresenta em sua composição a presença de carotenóides, as quais podem falsear as determinações, no entanto, sua mistura com os outros condimentos aumenta o efeito de proteção ao biodiesel, e conseqüentemente o PI.

Entre os antioxidantes utilizados, o extrato de folhas de café arábica (ensaio 3) apresentou-se como o mais eficaz, e sua mistura binária com o extrato de sálvia (ensaio 10) apresentou os maiores valores para o PI nas temperaturas de 110°C, 115°C e 125°C. A 120 ° C, a mistura entre folhas de café arábica e pimenta (ensaio 6) apresentou-se como a mais eficiente.

Através do monitoramento da estabilidade oxidativa, pelo equipamento Rancimat, foram obtidos os parâmetros cinéticos envolvidos no mecanismo da reação de oxidação do biodiesel. As constantes de velocidade foram determinadas pela equação 1 e a energia de ativação proposta por Arrhenius pela equação 2. A equação de Arrhenius é útil porque expressa a relação quantitativa entre a temperatura, a constante de velocidade e a energia de ativação. Os resultados estão representados na tabela 2.

Tabela 2 – Constante de velocidade da reação de oxidação do biodiesel

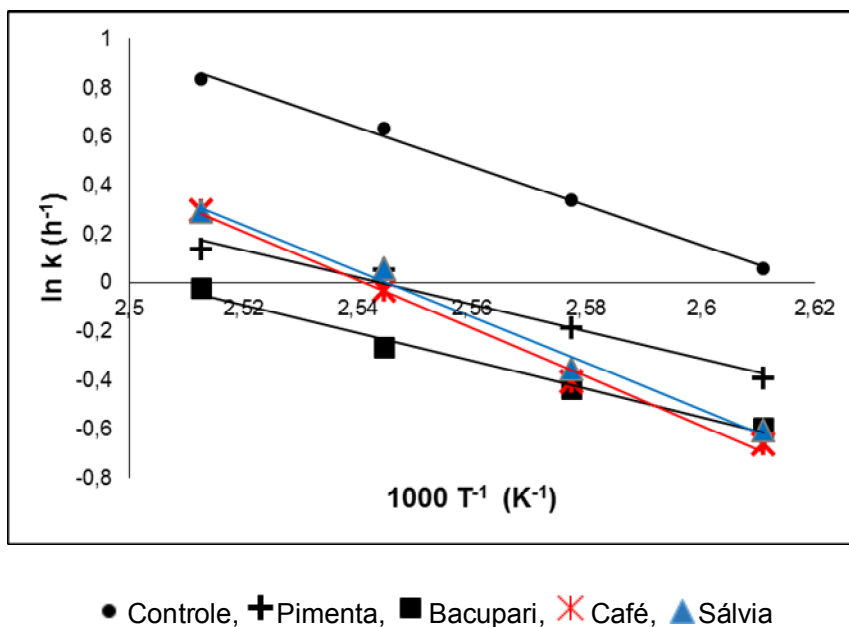
Ensaio	Misturas ^a	k (h ⁻¹)				Ea kJ mol ⁻¹	R ²
		110°C	115°C	120°C	125°C		
1	(1,0,0,0)	0,6761	0,8308	1,0552	1,1474	46,35	0,971
2	(0,1,0,0)	0,5513	0,6480	0,7674	0,9780	47,82	0,987
3	(0,0,1,0)	0,5169	0,6662	0,9700	1,3464	82,26	0,993
4	(0,0,0,1)	0,5475	0,7980	1,0569	1,3363	78,30	0,990
5	(½,½,0,0)	0,6199	0,7940	0,9880	1,3323	63,68	0,994
6	(½,0,½,0)	0,5218	0,7217	0,9480	1,2410	72,82	0,998
7	(½,0,0,½)	0,5875	0,8182	0,9804	1,2400	61,44	0,987
8	(0,½,½,0)	0,5179	0,7260	1,0525	1,2902	78,90	0,988
9	(0,½,0,½)	0,5146	0,7047	0,9481	1,0504	61,91	0,962
10	(0,0,½,½)	0,5274	0,6600	0,8340	1,0140	55,65	0,999
11	(⅓,⅓,⅓,0)	0,5567	0,6670	0,8300	1,1570	61,06	0,976
12	(⅓,⅓,0,⅓)	0,5707	0,7703	1,0883	1,1540	62,45	0,942
13	(⅓,0,⅓,⅓)	0,5479	0,6493	0,8505	1,2800	71,20	0,960
14	(0,⅓,⅓,⅓)	0,5306	0,7175	0,9222	1,1572	65,70	0,997
15	(¼,¼,¼,¼)	0,5631	0,6636	0,9420	1,1800	65,09	0,981
16	(¼,¼,¼,¼)	0,5460	0,6543	0,9470	1,2135	70,05	0,983
17	(¼,¼,¼,¼)	0,5744	0,6450	0,9320	1,2470	68,15	0,961
Controle	--	1,0603	1,4027	1,8858	2,307	66,35	0,995

* Proporção dos extratos de pimenta, folhas de bacupari, folhas de café arábica e sálvia.

Segundo Tan *et al* (2001) o valor de k está relacionado com a estrutura dos ácidos graxos e a presença ou não, dos antioxidantes no biodiesel, o que significa que a ausência de antioxidantes e a presença de insaturações em sua estrutura aumenta a constante de velocidade (PULLEN; SAEED, 2012) e ainda, de acordo com a teoria das colisões, o aumento da temperatura aumenta a energia de impacto das colisões, a qual faz com que aumente a probabilidade de mais moléculas excederem a energia de ativação formando mais produtos de oxidação, por isso, observa-se que os valores de k elevam-se com o aumento da temperatura, demonstrando a dependência do processo de oxidação com a temperatura, e diminuem na presença dos antioxidantes em todos os ensaios (MAIA et al., 2011; XIN et al., 2009).

Os antioxidantes elevam a Ea da reação de oxidação do biodiesel, prevenindo-a por um período maior. Entretanto, o fato da Ea ser dada pelo coeficiente angular significa que quanto mais elevada a Ea, mais forte será a dependência entre a constante de velocidade e a temperatura, isto é, mais inclinada é a reta do gráfico (BORSATO et al., 2014; GALVAN et al., 2014). A Figura 15 apresenta os dados da equação proposta por Arrhenius para a reação de oxidação do biodiesel B100 em mistura com os extratos adicionados isoladamente.

Figura 15 – Gráfico da Equação de Arrhenius para a reação de oxidação do biodiesel considerando os extratos adicionados isoladamente.



Alguns ensaios, como o 1 e o 2 (Tabela 1 e 2), apesar de apresentarem PI maior e k menor que o controle, apresentaram E_a menor que o esperado, isso ocorre devido a maior ou menor dependência da reação de oxidação do biodiesel com a temperatura, que indica um maior ou menor coeficiente angular respectivamente. Portanto, reações com maiores valores de E_a , como os extratos de folhas de café e sálvia, apresentam maior inclinação, maior coeficiente angular, e portanto, são mais dependentes da temperatura e para as reações com baixos valores para a E_a , o inverso é observado.

Portanto, a menor inclinação da reta no gráfico $\ln k \times T^{-1}$ confere uma menor E_a , indicando apenas que a reação é menos dependente da temperatura e não mais susceptível à oxidação que o controle (GALVAN et al., 2014; BORSATO et al., 2014).

Em contrapartida, a oxidação do biodiesel envolve uma série de reações químicas complexas e várias etapas e sabe-se que a E_a proposta por Arrhenius é um conceito empírico, originalmente proposta para explicar reações simples, onde a E_a permanece constante durante a reação. Este conceito é bastante simplificado para descrever as reações de oxidação do biodiesel, uma vez que os processos reacionais possuem uma descrição mais complexa, dependendo de fatores térmicos, de distribuições de não equilíbrio dos reagentes, configuração

geométrica entre outros, que influenciam diretamente na resposta experimental, taxa de reação, e conseqüentemente interferindo no comportamento da energia de ativação para a reação de oxidação do biodiesel (AQUILANTI et al., 2010; COUTINHO et al., 2015; SILVA et al., 2013).

Como os resultados da Ea, obtidos com o ajuste linear dos dados experimentais, utilizando a equação proposta por Arrhenius, não foram satisfatórios para explicar o aumento do PI na mistura do biodiesel com antioxidantes naturais, utilizamos como parâmetro comparativo o FPR (tabela 3) para otimizar a melhor combinação de extratos dos antioxidantes naturais considerando a atividade antioxidante e a estabilidade térmica de cada extrato.

Tabela 3 – FPR para cada ensaio do delineamento experimental.

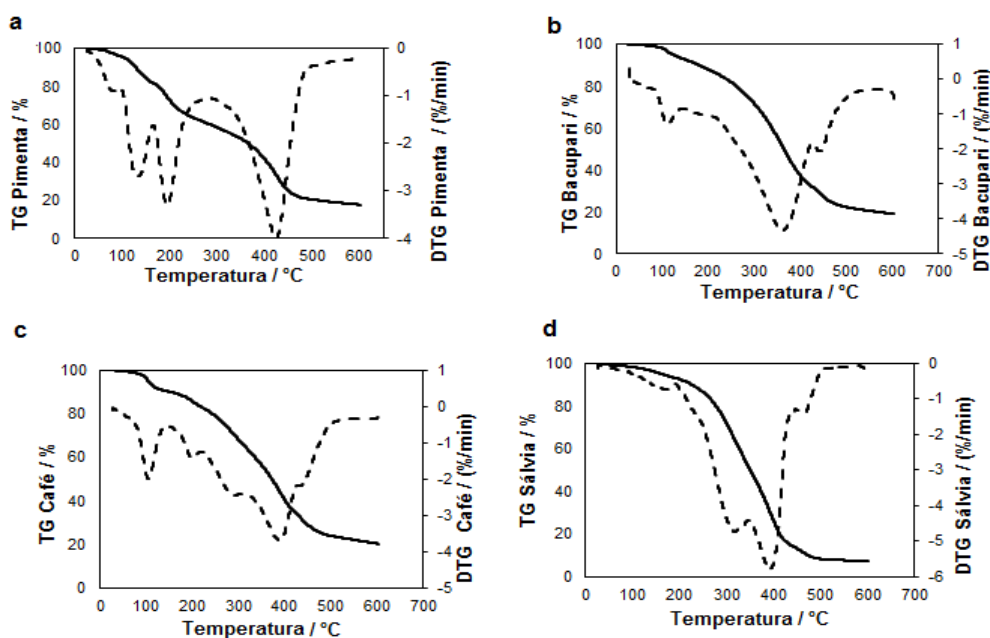
Ensaio	Misturas*	Fator de proteção Relativo (FPR)			
		110 °C	115 °C	120 °C	125 °C
1	(1,0,0,0)	1,61	1,46	1,66	1,51
2	(0,1,0,0)	1,97	1,74	1,78	1,58
3	(0,0,1,0)	2,17	1,96	2,00	1,85
4	(0,0,0,1)	2,04	1,93	1,87	1,80
5	($\frac{1}{2}$, $\frac{1}{2}$,0,0)	1,79	1,84	1,74	1,78
6	($\frac{1}{2}$,0, $\frac{1}{2}$,0)	2,15	1,95	2,08	1,82
7	($\frac{1}{2}$,0,0, $\frac{1}{2}$)	2,00	1,82	1,93	1,72
8	(0, $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{2}$,0)	2,12	1,94	1,86	1,72
9	(0, $\frac{1}{2}$,0, $\frac{1}{2}$)	2,06	1,83	1,73	1,72
10	(0,0, $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{2}$)	2,28	2,05	1,90	1,88
11	($\frac{1}{3}$, $\frac{1}{3}$, $\frac{1}{3}$,0)	2,12	1,87	1,91	1,71
12	($\frac{1}{3}$, $\frac{1}{3}$,0, $\frac{1}{3}$)	2,07	1,74	1,73	1,69
13	($\frac{1}{3}$,0, $\frac{1}{3}$, $\frac{1}{3}$)	2,22	2,01	2,02	1,77
14	(0, $\frac{1}{3}$, $\frac{1}{3}$, $\frac{1}{3}$)	2,08	1,84	1,93	1,78
15	($\frac{1}{4}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{4}$)	2,09	1,95	1,94	1,77
16	($\frac{1}{4}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{4}$)	2,09	1,88	1,96	1,81
17	($\frac{1}{4}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{4}$)	2,17	1,81	1,97	1,80

* Proporção dos extratos de pimenta, folhas de bacupari, folhas de café arábica e sálvia.

A mistura binária entre folhas de café arábica e sálvia (ensaio 10) foi a que apresentou melhor eficácia na proteção do biodiesel com os maiores valores de FPR nas temperaturas de 110, 115 e 125°C. O extrato de pimenta (ensaio 1) apresentou o menor valor de FPR para todas as temperaturas, no entanto a 120 °C a mistura binária entre o seu extrato e folhas de café arábica (ensaio 6) apresentou o maior valor de FPR. A fim de justificar estes resultados foi realizado a análise termogravimétrica dos extratos liofilizados com o intuito de verificar se o perfil da decomposição térmica dos extratos está relacionado com a capacidade antioxidante

de proteger o biodiesel. A figura 16 mostra as curvas TG e DTG, para os extratos liofilizados adicionados ao biodiesel B100.

Figura 16 – Análise termogravimétrica (TG/DTG) dos extratos liofilizados de (a) pimenta, (b) bacupari, (c) café e (d) sálvia. ——— TG - - - - DTG



A tabela 4 mostra os dados do primeiro e segundo eventos térmicos obtidos através da interpretação das curvas TG/DTG.

Tabela 4 – Dados da análise térmica dos extratos adicionados ao biodiesel B100.

Extrato	Temperatura (°C) - DTG		Perda de massa (%) –TG	
	1° Evento	2° Evento	1° Evento	2° Evento
Pimenta	79,76	133,49	3,871	13,281
Bacupari	112,00	361,53	6,235	64,3
Café	105,00	201,92	9,56	7,262
Sálvia	207,38	392,53	43,623	41,302

O extrato alcoólico de pimenta apresenta um alto teor de fenóis, no entanto sua decomposição térmica se inicia antes do teste da estabilidade oxidativa e ainda apresenta outro evento a 133,49 °C, ou seja, o extrato apresenta duas

decomposições térmicas próximas da faixa de temperatura utilizada no teste Rancimat, o que diminui seu efeito protetor quando adicionado ao biodiesel isoladamente.

O extrato de folhas de café arábica também inicia sua decomposição térmica antes de iniciar o teste da estabilidade oxidativa com uma perda de massa de 9,56%, mas sua segunda decomposição térmica ocorre apenas após o término do teste Rancimat, a 201,92°C, assim o valor de FPR é compensado por este apresentar uma boa atividade antioxidante, com duas perdas de massa abaixo de 10%.

Os extratos alcoólicos de sálvia e folhas de bacupari apresentaram valores próximos e os menores para o teor de fenóis e atividade antioxidante em comparação com os outros condimentos, no entanto a análise termogravimétrica mostrou que o extrato de sálvia tem seu primeiro evento térmico após o término do teste Rancimat, apresentando uma estabilidade térmica bem mais elevada quando comparada com os outros extratos o que aumenta seu efeito de proteção na reação de oxidação do biodiesel.

Com a aplicação do delineamento experimental de mistura simplex-centroide, foram obtidos os modelos matemáticos (Equações 4-7), contendo apenas os termos significativos, onde Y representa a variável dependente, FPR, para as temperaturas de 110, 115, 120 e 125°C e x_1 , x_2 , x_3 e x_4 são as variáveis independentes que correspondem respectivamente aos extratos alcoólicos de pimenta, folhas de bacupari, folhas de café arábica e sálvia. Os coeficientes de determinação (R^2) variaram de 0,87 a 0,98, os coeficientes de determinação ajustados (R^2_{aj}) de 0,80 a 0,95 e o desvio da regressão, não significativo ($0,24 \leq p \leq 0,79$) indicando que o modelo matemático pode ser usado para fins preditivos.

$$\hat{Y}_{110}^{\text{FPR}} = 1,60x_1 + 2,00x_2 + 2,18x_3 + 2,05x_4 + 1,04x_1x_3 + 0,69x_1x_4 + 0,65x_3x_4 + 1,63x_1x_2x_3 + 2,46x_1x_2x_4 - 2,46x_2x_3x_4 \quad \text{Eq.4}$$

$$\hat{Y}_{115}^{\text{FPR}} = 1,46x_1 + 1,74x_2 + 2,01x_3 + 1,94x_4 + 0,89x_1x_2 + 0,87x_1x_3 + 0,56x_1x_4 - 3,53x_1x_2x_4 \quad \text{Eq.5}$$

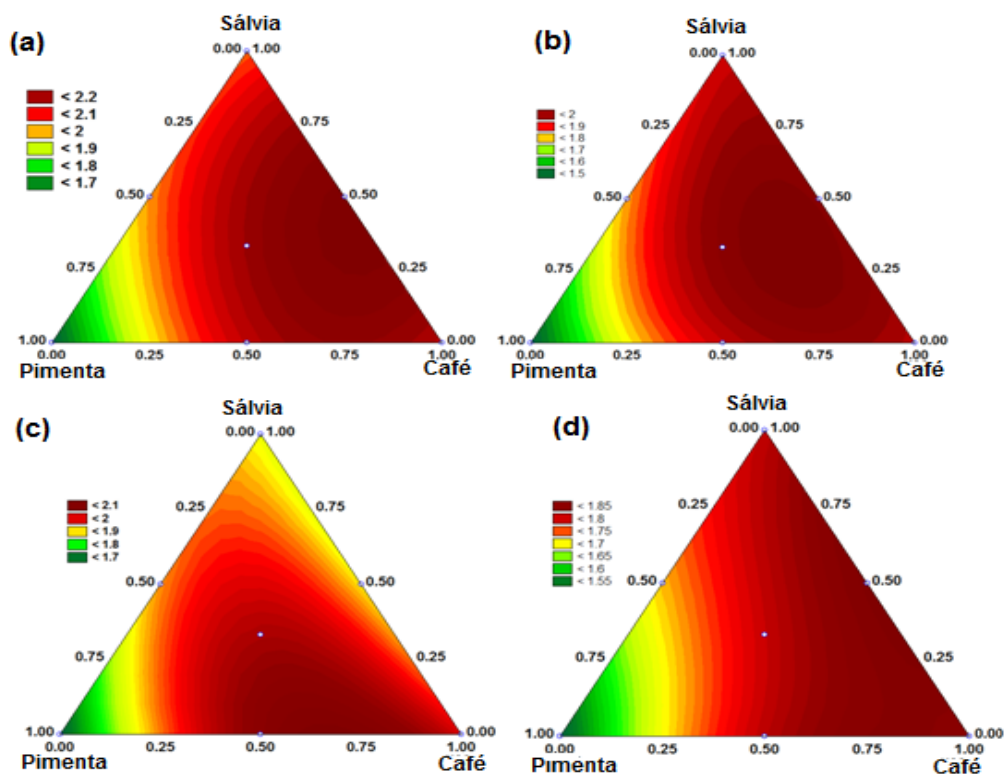
$$\hat{Y}_{120}^{\text{FPR}} = 1,67x_1 + 1,77x_2 + 1,98x_3 + 1,87x_4 + 1,05x_1x_3 + 0,59x_1x_4 - 0,46x_2x_4 + 3,28x_2x_3x_4 \quad \text{Eq.6}$$

$$\hat{Y}_{125}^{\text{FPR}} = 1,53x_1 + 1,58x_2 + 1,86x_3 + 1,84x_4 + 0,74x_1x_2 + 0,37x_1x_3 \quad \text{Eq.7}$$

□

Como o extrato de folhas de bacupari não se mostrou tão eficiente na inibição da auto oxidação do biodiesel, as regiões de combinação foram construídas e apresentadas na figura 17 usando as três variáveis independentes mais importantes, que correspondem a proporção dos extratos de pimenta, folhas de café arábica e sálvia adicionados ao biodiesel.

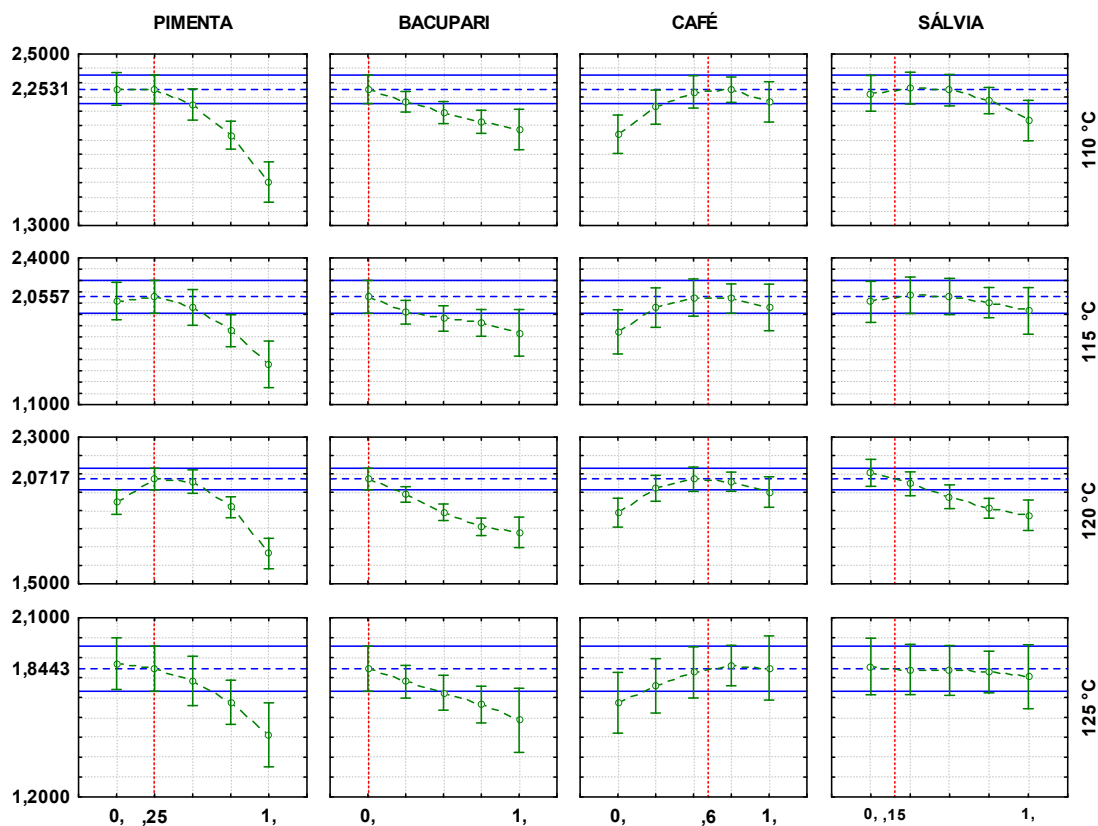
Figura 17 – Superfície de resposta do fator de proteção para cada ponto do delineamento experimental para as temperaturas (a) 110°C, (b) 115°C, (c) 120°C e (d) 125°C.



A região de combinação ternária entre as variáveis independentes, observada por meio das curvas de nível apresentada acima mostra que as regiões de formulação ótima tendem a utilizar uma mistura ternária contendo os extrato de folhas de café arábica, pimenta e sálvia com maior proporção para o extrato de folhas de café arábica.

Utilizando o delineamento de mistura, simplex-centroide, foi possível determinar a melhor mistura de extrato por otimização conjunta das equações preditivas, como mostra a figura 18.

Figura 18 – Otimização do fator de proteção relativo do biodiesel em mistura com antioxidantes naturais em diferentes temperaturas.



A otimização multiresposta do FPR indicou uma mistura na proporção de extratos alcoólicos de 25% de pimenta, 60% de folhas de café arábica e 15% de sálvia com valores de FPR a 110°, 115°, 120° e 125°C respectivamente iguais a 2,2531, 2,0557, 2,0717 e 1,8443.

6 CONCLUSÃO

Os resultados do teste Rancimat indicaram que a reação de oxidação do biodiesel B100 em mistura com os extratos dos antioxidantes naturais apresentaram período de indução maior que o mínimo estabelecido pela norma EN14112, com exceção do extrato de pimenta utilizado isoladamente, e, portanto, podem ser utilizados para inibir o processo oxidativo do combustível. O delineamento experimental de misturas simplex-centroide mostrou-se uma ferramenta adequada para prever a melhor combinação de extrato alcoólico que deve ser adicionada ao biodiesel com a finalidade de aumentar sua estabilidade oxidativa. A mistura dos extratos alcoólicos na proporção de 25% de pimenta, 60% de folhas de café arábica e 15% de sálvia foi apontada como a melhor combinação entre as misturas pela otimização multirresposta do FPR, que provou ser um parâmetro adequado para analisar a eficiência dos antioxidantes naturais na proteção da reação de oxidação do biodiesel. Já, a energia de ativação proposta por Arrhenius não foi satisfatória para explicar o aumento do PI e FPR em relação ao controle devido a maior ou menor dependência da reação de oxidação do biodiesel com a temperatura.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, A. G. D. F.; CARAMIT, R. P.; ARAÚJO, T. A.; VIANA, L. H.; SOUZA, J. B. G.; TRINDADE, M. A.; FERREIRA, V. S. Otimização de Diferentes Procedimentos de Preparo de Amostras: Aplicação na Extração de Antioxidantes Presentes em Biodiesel. **Orbital-The Electronic Journal of Chemistry**, v. 7, n.2, p. 87-98, 2015.

ARAUJO, T. A.; BARBOSA, A. M. J.; VIANA, L. H.; FERREIRA, V. S. Electroanalytical determination of TBHQ, a synthetic antioxidant, in soybean biodiesel samples. **Fuel**, v. 90, p. 707-712, 2011.

ARORA, R.; GILL, N. S.; CHAUHAN, G. An overview about versatile molecule capsaicin. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research**, v.3, n.4, p.280-286, 2011.

AQUILANTI, V.; MUNDIM, K. C.; ELANGO, M.; KLEIJN, S.; KASAI, T. Temperature dependence of chemical and biophysical rate processes: Phenomenological approach to deviations from Arrhenius law. **Chemical Physics Letters**, v. 498, n. 1, p. 209-213, 2010.

BALL, D. W. Físico-Química, v.2. São Paulo: **Pioneira Thomson Learning**, 2006.

BASHA, S. A.; GOPAL, K. R.; JEBARAJ, S. A review on biodiesel production, combustion, emissions and performance. **Renewable and sustainable energy reviews**, v. 13, n. 6, p. 1628-1634, 2009.

BERSET, C.; CUVELIER, M. E. Méthodes d'évaluation du degré d'oxydation des lipides et de mesure du pouvoir antioxydant. **Sciences des aliments**, v. 16, n. 3, p. 219-245, 1996.

BERNARDI, C. A. *Garcinia Gardineriana (Planchn Triana) Zappi. Como alternativa de anti-inflamatório tópico para o tratamento de doenças da pele: um estudo pré clínico. Pós graduação em farmacologia. Dissertação de Mestrado em Farmacologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.*

BORSATO, D.; GUEDES, C. L. B.; MOREIRA, I.; PINTO, J. P.; DIAS, G. H.; SPACINO, K. R. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas (Londrina)**, v. 31, n. 1, p. 3-13, 2010.

BORSATO, D.; MAIA, E. C. R.; DALL'ANTONIA, L. H.; SILVA, H. C.; PEREIRA, J. L. Cinética da oxidação do biodiesel de óleo de soja em mistura com TBHQ: Determinação do tempo de estocagem. **Química Nova**, v.35, n.4, p.733-737, 2012.

BORSATO, D.; CINI, J. R. M.; SILVA, H. C.; COPPO, R.; ANGILELLI, K. G.; MOREIRA, I.; MAIA, E. C. R. Oxidation kinetics of biodiesel from soybean mixed with synthetic antioxidants BHA, BHT and TBHQ: Determination of activation energy. **Fuel Processing Technology**, v. 127, p.111–116, 2014.

BOTTA, B.; MAC-QUHAE, M.; DELLE MONACHE, G.; DELLE MONACHE, F.; DE MELLO, J. F. Chemical investigation of the genus *Rheedia*. V: Biflavonoids and xanthochymol. **Journal of Natural Products**, v. 47, n. 6, p. 1053, 1984.

BRASIL. Ministério de Minas e Energia. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Estabelece os percentuais de adição obrigatória de biodiesel ao óleo diesel comercializado. LEI N° 13.032, DE 24 DE SETEMBRO DE 2014, publicado no **Diário Oficial da União**, Brasília, 25 de setembro de 2014, n. 185, Seção 1, p. 3.

BRASIL. Ministério de Minas e Energia. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Estabelece os percentuais de adição obrigatória de biodiesel ao óleo diesel comercializado. LEI N° 13.263, DE 23 DE MARÇO DE 2016, publicado no **Diário Oficial da União**, Brasília, 24 de março de 2016, n. 57, Seção 1, p. 1.

BRAZ FILHO, R.; CAVALCANTE DE MAGALHÃES, G.; GOTTLIEB, O. R. Xanthones of *Rheedia gardneriana*. **Phytochemistry**, v. 9, p. 673, 1970.

BREITKREITZ, M. C.; JARDIM, I. C. S. F.; BRUNS, R. E. Combined column-mobile phase mixture statistical design optimization of high-performance liquid chromatographic analysis of multicomponent systems. **Journal of Chromatography**, v. 1216, p. 1439-1449, 2009.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D. C. **Planejamento de Experimentos Usando o Statistica**. Rio de Janeiro: E-papers Serviços Editoriais Ltda, 2003.

CASAGRANDE, R.; GEORGETTI, S. R.; VERRI Jr, W. A.; BORIN, M. F.; LOPEZ, R. F. V.; FONSECA, M. J. V. In vitro evaluation of quercetin cutaneous absorption from topical formulations and its functional stability by antioxidant activity. **International journal of pharmaceutics**, v. 328, n. 2, p. 183-190, 2007.

CASTARDO, J.C.; PRUDENTE, A. S.; FERREIRA, J.; GUIMARÃES, C. L.; DELLE MONACHE, F.; CECHINEL FILHO, V.; CABRINI, D. A. Anti-inflammatory effects of hydroalcoholic extract and two biflavonoids from *Garcinia gardneriana* leaves in mouse paw oedema. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 118, n. 3, p. 405-411, 2008.

CASTREJON, A. D. R.; EICHHOLZ, I.; ROHN, S.; KROH, L. W.; HUYSKENS-KEIL, S. Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening. **Food Chemistry**, Washington, v. 109, p. 564–572, 2008.

CECHINEL FILHO, V.; DA SILVA, K. L.; DE SOUZA, M. M.; OLIVEIRA, A. E.; YUNES, R. A.; GUIMARÃES, C. L.; VERDI, L. G.; SIMIONATTO, E. L.; DELLE MONACHE, F. 13naringenina-118-4'-OMe-eriodictyol: a new potential analgesic agent isolated from *Rheedia gardneriana* leaves. **Zeitschrift für Naturforsch**, v. 55, p. 820-823, 2000.

CINI, J. R. M.; BORSATO, D.; GUEDES, C. L. B.; SILVA, H. C.; COPPO, R. L. Comparison of methods for determination of oxidative stability of B100 biodiesel

mixed with synthetic antioxidants. Application of simplex-centroid design with process variable. **Química Nova**, v. 36, n.1, pp.79-84, 2013.

COPPO, R. L.; PEREIRA, J. L.; SILVA, H. C.; ANGILELLI, K. G.; RODRIGUES P. R. P.; GALVAN, D.; BORSATO, D. Effect of Natural Antioxidants on Oxidative Stability of Biodiesel from Soybean Oil. Applying Simplex-Centroid Design. **Journal of Biobased Materials and Bionergy**, v. 8, p. 545-551, 2014.

CORNELL, J. A. Experiments with mixtures: designs, models and the analysis of mixture data. 2nd. ed.; New York: **John Wiley and Sons**, 1990. p.632.

CORNELL, J. A.; **Experiments with mixtures - designs, models and the analysis of mixture data**, 3rd ed., John Wiley and Sons, Inc: New York, 2002

COUTINHO, NAYARA D. ; SILVA, V. H. C.; MUNDIM, K. C.; OLIVEIRA, H. C. B. Description of the effect of temperature on food systems using the deformed Arrhenius rate law: deviations from linearity in logarithmic plots vs. inverse temperature. **Rendiconti Lincei**, v. 26, n. 2, p. 141-149, 2015.

CUVELIER, M. E.; RICHARD, H.; BERSET, C. Comparison of the antioxidant activity of some acid phenols: structure-activity relationship. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v.59, p.324-325, 1992.

CUVELIER, M. E.; RICHARD, H.; BERSET, C. Antioxidant constituents in sage (*Salvia officinalis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, p. 665-669, 1994.

DABDOUB, M. J.; BRONZEL, J. L.; RAMPIN, M. A. Biodiesel: visão crítica do status atual e perspectivas na academia e na indústria. **Química Nova**, v.32, p.776-792, 2009.

DANTAS, M. B.; ALBUQUERQUE, A. R.; BARROS, A. K.; RODRIGUES FILHO, M. G.; ANTONIOSI FILHO, N. R.; SINFRÔNIO, F. S. M.; ROSENHAIM, R.; SOLEDADE, L. E. B.; SANTOS, I. M.G.; SOUZA, A. G. Evaluation of the oxidative stability of corn biodiesel. **Fuel**, v. 90, p. 773-778, 2011.

DELLE MONACHE, G.; DELLE MONACHE, F.; BETTOLO, G. B. M. Chemical investigation of the genus *Rheedia*. II. Prenylated xanthenes from *Rheedia gardneriana*. **Journal of Natural Products**, v. 46, n. 5, p. 655 – 659, 1983

DEMIRBAS, A. Importance of biodiesel as transportation fuel. **Energy policy**, v. 35, n. 9, p. 4661-4670, 2007.

DERRINGER, G.; SUICH, R. Simultaneous optimization of several response variables. **Journal of Quality technology**, v. 12, p. 214-219, 1980.

DIAS, G. H.; GUEDES, C. L. B.; SILVA, E. T.; ANGILELLI, K. G.; COPPO, R. L.; BORSATO, D. Application of the simplex-centroid design with process variable in the optimization of production conditions of B100 biodiesel from sunflower oil. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 36, n. 3, p. 505-512, 2014.

ECCARDI, F.; SANDALJ, V. O café: ambientes e diversidade. Rio de Janeiro: Casa da Palavra, 2003. P. 237.

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

EVERETTE, J. D.; BRYANT, Q. M.; GREEN, A. M.; ABBEY, Y. A.; WANGILA, G. W.; WALKER, R. B. Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin-Ciocalteou reagent. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 58, p. 8.139-8.144, 2010.

FARAH, A.; DONANGELO, C. M. Phenolic compounds in coffee. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.18, p.23-26, 2006.

FATTAH, I. M. R.; MASJUKI, H. H.; KALAM, M. A.; HAZRAT, M. A.; MASUM, B. M.; IMTENAN, S.; ASHRAFUL, A. M. Effect of antioxidants on oxidation stability of biodiesel derived from vegetable and animal based feedstocks. **Renewable Sustainable Energy Reviews**, v. 30, p.356-370, 2014.

FERRARI, R. A.; OLIVEIRA, V. S.; SCABIO, A. Oxidative stability of biodiesel from soybean oil fatty acid ethyl esters. **Scientia Agricola**, v. 62, n. 3, p. 291-295, 2005.

FRANCO, A. L. C.; LOBO, I. P.; CRUZ, R. S.; TEIXEIRA, C. M. L. L.; ALMEIDA. Biodiesel de microalgas: avanços e desafios. **Química Nova**, v. 36, n. 3, p. 437-448, 2013.

FRANKEL, E. N. Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. **Food chemistry**, v. 57, n. 1, p. 51-55, 1996.

GALVAN, D.; ORIVES, J. R.; COPPO, R. L.; SILVA, E. T.; ANGILELLI, K. G.; BORSATO, D. Determination of the kinetics and thermodynamics parameters of biodiesel oxidation reaction obtained from optimized mixture of vegetable oil and animal fat. **Energy & Fuels**, v. 27, p. 6866- 6871, 2013.

GALVAN, D.; ORIVES, J. R.; COPPO, R. L.; RODRIGUES, C. H. F.; SPACINO, K. R.; PINTO, J. P.; BORSATO, D. Study of oxidation kinetics of b100 biodiesel from soybean and pig fat: activation energy determination. **Química Nova**, v. 37, p. 244-248, 2014.

GALVAN, D. **Determinação dos parâmetros cinéticos da reação de oxidação do biodiesel B100**. 2014. 52 f. Dissertação de Mestrado em Bionergia – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2014.

GERIS, R.; AMARAL, B. A.; de SMAIA, I.; CASTRO, V. D.; Carvalho, J. R. M. Biodiesel de Soja – Reação de Trasterificação para Aulas Práticas de Química Orgânica. **Química Nova**, v.30, n. 5, 1369-1373, 2007.

GEORGETTI, S. R.; CASAGRANDE, R.; VERRI Jr, W. A.; LOPEZ, R. F. V.; FONSECA, M. J. V. Evaluation of in vivo efficacy of topical formulations containing soybean extract. **International journal of pharmaceutics**, v. 352, n. 1, p. 189-196, 2008.

GIADA, M.L.R.; MANCINI- FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante in vitro de compostos fenólicos de alimentos. **Nutrire**, v.28, p. 91-107, 2004.

GUIMARÃES, C. L.; OTUKI, M. F.; BEIRITH, A.; CABRINI, D. A. Uma revisão sobre o potencial terapêutico da *Garcinia gardneriana*. **Dynamis Revista TecnoCientífica**, v. 12, n. 48, p. 6-12, 2004.

HILL, T.; LEWICKI, P. **Statistics: Methods and Applications**. Tulsa, OK, USA: Statsoft, 2006

JORGE, N.; GONCALVES, L. A. G. Comportamento do óleo de girassol com alto teor de ácido oléico em termoxidação e fritura. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 3, p. 335-342, 1998.

KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 36, p. 703-725, 2001.

KAPPEL, V.D.; COSTA, G. M.; SCOLA, G.; SILVA, F. A.; LANDELL, M. F.; VALENTE, P.; MOREIRA, J. C. Phenolic content and antioxidant and antimicrobial properties of fruits of *Capsicum baccatum* L. var. *pendulum* at different maturity stages. **Journal of Medicinal Food**, v.11, n.2, p.267-274, 2008.

KNOTHE, G.; VAN GERPEN, J.; KRAHL, J. **The Biodiesel Handbook**. Urbana, IL: American Oil Chemistry Society Press, 2005.

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

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

LEVENSPIEL, O. Chemical reaction engineering. **Industrial & engineering chemistry research**, v. 38, n. 11, p. 4140-4143, 1999.

LÓPEZ, P.; GORZALCZANY, S.; ACEVEDO, C.; ALONSO, R.; FERRARO, G. Chemical study and antiinflammatory activity of *Capsicum chacoense* and *C. baccatum*. **Revista brasileira de farmacognosia**, v.22, n.2, p.455-458, 2012.

LUZZI, R.; GUIMARÃES, C. L.; VERDI, L. G.; SIMIONATTO, E. L.; DELLE MONACHE, F.; YUNES, R. A.; FLORIANI, A. E. O.; CECHINEL FILHO, V. Isolation of biflavonoids with analgesic activity from *Rheedia gardneriana* leaves. **Phytomedicine**, v. 4, p. 139 – 142, 1997.

MADSEN, H.L.; BERTELSEN, G. Spices as antioxidants. **Trends in Food Science and Technology**, v.6, n.8, p.271-7, 1995.

MAIA, E. C. R.; BORSATO, D.; MOREIRA, I.; SPACINO, K. R.; RODRIGUES, P. R. P.; GALLINA, A. L. Study of the biodiesel B100 oxidative stability in mixture with antioxidants. **Fuel Processing Technology**, Philadelphia, v. 92, p. 1750–1755, 2011.

MAILLARD, M. N.; SOUM, M. H.; BOIVIN, P.; BERSET, C. Antioxidant Activity of Barley and Malt: Relationship with Phenolic Content. **Food Science and Technology**, v. 29, p. 238-244, 1996.

MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. Revisão: antioxidantes naturais da família lamiaceae. Aplicação em Produtos Alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 10, n. 2, p. 96-103, 2007

MASSONI, I. S.; COSTA, G. H. G.; ROVIEVO, J. P.; FREITA, L. A.; MUTTON, M. A.; MUTTON, M. J. R. Produção de bioetanol a partir da fermentação de caldo de sorgo sacarino e cana-de-açúcar. **Ciência Rural, Santa Maria**, v. 45, n. 9, p.1695-1700, set, 2015.

MATIELLO, J. B. Café Conillon. Rio de Janeiro: **Procafé**, 1998. 162p.

MONYEM, A.; VAN GERPEN, J. H. The effect of biodiesel oxidation on engine performance and emissions. **Biomass and Bioenergy**, v. 20, p. 317-325, 2001.

RIBEIRO, M. A.; BERNARDO-GIL, M. G.; ESQUÍVEL, M. M. Melissa officinalis, L.: study of antioxidant activity in supercritical residues. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 21, n. 1, p. 51-60, 2001.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography**, New York, v. 1054, n. ½, p. 95-11, 2004.

NISHIYAMA, M.; KLEIJN, S.; AQUILANTI, V.; KASAI, T. Mass spectrometric study of the kinetics of O₂ consumption and CO₂ production by breathing leaves. **Chemical Physics Letters**, v. 470, n. 4, p. 332-336, 2009.

POKORNÝ, J. Are natural antioxidants better—and safer—than synthetic antioxidants. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, p.629–642, 2007.

POLAVKA, J.; PALIGOVA, J.; CVENGROS, J.; SIMON, P. Oxidation stability of methyl esters studied by differential thermal analysis and Rancimat. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. v. 82, n. 7, p. 519-524, 2005.

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

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

RAMOS, L. P.; KUCEK, K. T.; DOMINFOS, A. K.; WILHELM, H. M. BIODIESEL. Um projeto de sustentabilidade econômica e sócio-ambiental para o Brasil. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 31, p.28-37, jul-dez, 2003.

RODRIGUES, C. A.; OLIVEIRA, A. E.; WILLAIN, F. R.; CECHINEL FILHO, C. L.; GUIMARÃES, C. L.; YUNES, R. A.; DELLE MONACHE, F. Separation of biflavonoids from *Rheedia gardneriana* using chitin-Fe complex as stationary phase. **Pharmazie**, v. 55, n. 9, p. 699-700, 2000.

SCALZO, J.; POLITI, A.; PELLEGRINI, N.; MEZZETTI, B.; BATTINO, M. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. **Nutrition**, Los Angeles, v. 21, p. 207–213, 2005.

SCHEFFE, H. The simplex-centroid design for experiments with mixtures. **Journal of the Royal Statistical Society Series B**, v25, p. 235–263, 1963.

SILVA, A. A. L.; DIAS SANTOS, A. G.; DI SOUZA, L.; DA SILVA CALDEIRA, V. P.; LUZ JÚNIOR, G. E.; ARAÚJO, A. S. Síntese e Caracterização de Biodiesel de Sebo Bovino e de sua Mistura B10. **Orbital-The Electronic Journal of Chemistry**, v. 7, n. 1, p. 21-27, 2015.

SILVA, V. H.; AQUILANTI, V.; DE OLIVEIRA, H. C.; MUNDIM, K. C. Uniform description of non-Arrhenius temperature dependence of reaction rates, and a heuristic criterion for quantum tunneling vs classical non-extensive distribution. **Chemical Physics Letters**, v. 590, p. 201-207, 2013.

SIMIC, M. G.; JAVANOVIC, S. V. Inactivation of oxygen radicals by dietary phenolic compounds in anticarcinogenesis. In: **ACS symposium series (USA)**. 1994.

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

SPACINO, K. R.; BORSATO, D.; BUOSI, G. M.; CHENDYNSKI, L. T. 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.

SPACINO, K. R.; SILVA, E. T.; ANGILELLI, K. G.; MOREIRA, I.; GALÃO, O. F.; BORSATO, D. Relative protection factor optimisation of natural antioxidants in biodiesel B100. **Industrial Crops and Products**, v.80, p. 109-114, 2016.

STATSOFT®; Statistica for Windows Software v.9.0; StatSoft Inc., United States, 2009.

TAN C. P.; MAN, Y. C.; SELAMAT, J.; YUSOFF, M. S. A. Application of Arrhenius kinetics to evaluate oxidative stability in vegetable oils by isothermal differential scanning calorimetry. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 78, n. 11, p. 1133-1138, 2001.

VIZZOTTO, M.; RASEIRA, M. C. B.; PEREIRA, M. C.; FETTER, M. R. Teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante em diferentes genótipos de amoreira-preta (*Rubus* sp.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 3, p. 853-858, 2012.

WANG, S. Y.; LIN, H. S. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 48, p. 140-146, 2000.

WAZILEWSKI, W.T.; BARICCATTI, R. A.; MARTINS, G. I.; SECCO, D.; SOUZA, S. M. N.; ROSA, H. A.; CHAVES, L. I. Study of the methyl crambe (*Crambe abyssinica* Hochst) and soybean biodiesel oxidative stability. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 207-212, 2013.

WONG, J. W.; HASHIMOTO, K.; SHIBAMOTO, T. Antioxidant activities of rosemary and sage extracts and vitamin E in a model system. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, p. 2707-12, 1995.

YANG, Z.; HOLLEBONE, B. P.; WANG, Z.; YANG, C.; LANDRIAULT, M. Factors affecting oxidation stability of commercially available biodiesel products. **Fuel processing technology**, v. 106, p. 366-375, 2013.

XIN, J.; IMAHARA, H.; SAKA, S. Kinetics on the oxidation of biodiesel stabilized with antioxidant. **Fuel**, v. 88, n. 2, p. 282-286, 2009.