



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

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

AVALIAÇÃO DE AMINAS AROMÁTICAS COMO ANTIOXIDANTES PARA BIODIESEL

RAQUEL FINAZZI VILELA

João Pessoa – PB

Agosto – 2014



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

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

AVALIAÇÃO DE AMINAS AROMÁTICAS COMO ANTIOXIDANTES PARA BIODIESEL

RAQUEL FINAZZI VILELA*

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Química
da Universidade Federal da Paraíba, em
cumprimento às exigências para obtenção
do título de Mestre em Química, área de
concentração Química Orgânica.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Neide Queiroz

Co-Orientador: Prof. Dr. Antônio Gouveia de Souza

*Bolsista da Capes

João Pessoa – PB

Agosto – 2014

V699a Vilela, Raquel Finazzi.

*Avaliação de aminas aromáticas como
antioxidantes para biodiesel / Raquel Finazzi Vilela.-
João Pessoa, 2014.*

71f. : il.

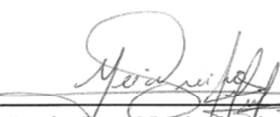
Orientadora: Neide Queiroz

Coorientador: Antônio Gouveia de Souza

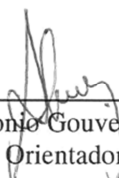
Dissertação (Mestrado) – UFPB/CCEN

“Avaliação de aminas aromáticas como antioxidantes para biodiesel”

Dissertação de Mestrado de Raquel Finazzi Vilela aprovada pela banca examinadora em 01 de agosto de 2014:



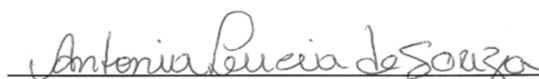
Profa. Dra. Neide Queiroz
Orientadora/Presidente



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



Profa. Dra. Marileide Lira de Araújo Tavares
Examinadora



Profa. Dra. Antonia Lúcia de Souza
Examinadora

Dedicatória

Aos meus pais, João Vilela (in memorian) e Maria Lúcia Finazzi Vilela

Aos meus irmãos Flávio e Taise

Ao meu esposo Nicola e ao meu filho Davi

Ao meu sobrinho João Ângelo

AGRADECIMENTOS

À Deus, por estar comigo em todos os segundos que respiro e por me presentear com a força de vida que me impulsiona na busca de dias melhores.

À minha família, mãe, pai, irmãos, marido e filho pelo apoio nas horas difíceis.

À professora Neide Queiroz pelo profissionalismo, orientações, ensinamentos, conselhos, esforços, amizade e por tornar possível a realização deste trabalho.

Ao professor Antônio Gouveia de Souza pela colaboração na realização deste trabalho, pela disponibilidade do espaço e equipamentos.

Aos professores do Lacom, Antonia Lucia de Souza, Iêda Maria Garcia, Nataly Albuquerque e Raul Rosenhaim pela disponibilidade e sugestões.

À professora Ângela Tribuzy pelas contribuições nas análises de DPPH e amizade.

À técnica Maria Lucia pelos conselhos, ensinamentos e amizade.

À técnica e amiga Alline pelo acolhimento dispensado nos momentos difíceis.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Química da UFPB que colaboraram expressivamente para meu crescimento profissional.

Aos amigos do Programa de Pós-graduação em Química da UFPB.

Aos meus amigos: Pedro, Felipe, André, Andréia Suame, Gabrielly, Geilly, Maristela, Anderson, Ielena, Kiko, Thiago Marinho.

Aos secretários do Programa de Pós-graduação em Química da UFPB, Marcos Pequeno e Danila.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito.
Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Marthin Luther King)

Título: Avaliação de aminas aromáticas como antioxidantes para biodiesel

Autor: Raquel Finazzi Vilela

Orientador: Prof^a Dr^a Neide Queiroz

Co-orientador: Prof. Dr. Antônio Gouveia de Souza

RESUMO

Esta dissertação compreendeu a aplicação das aminas aromáticas (1,2-diaminobenzeno, difenilamina, 3,4-diaminotolueno) como aditivos antioxidantes para uso em biodiesel. Os compostos aminados foram utilizados puros, combinados entre si e com os antioxidantes fenólicos TBHQ, BHT e BHA, comumente utilizados em biodiesel. Uma avaliação prévia do potencial dos antioxidantes foi feita utilizando o método DPPH e o sistema β -caroteno/ácido linoleico. Os resultados mostraram que estes compostos são capazes de interromper a oxidação lipídica através da captura dos radicais livres, agindo, portanto, como antioxidantes primários. Na avaliação do efeito antioxidante das aminas no biodiesel foram utilizadas combinações binárias compostas por duas aminas e por uma amina e um antioxidante fenólico. As técnicas empregadas foram Rancimat, Calorimetria Diferencial de Varredura Pressurizada (P-DSC) e PetroOxy. Com exceção da difenilamina, os demais antioxidantes puros corrigiram de forma eficiente a estabilidade oxidativa do biodiesel. Com relação às misturas binárias, todas provocaram efeito antioxidante nas amostras de biodiesel em que foram empregadas. Portanto, a partir destes resultados, ficou evidente que, há um forte potencial das aminas aromáticas para serem utilizadas como antioxidantes para biodiesel, bem como suas misturas binárias.

Palavras-chave: biodiesel • estabilidade oxidativa • antioxidantes • aminas aromáticas

Title: Evaluation of aromatic amines as antioxidants for biodiesel

Author: Raquel Finazzi Vilela

Advisers: Prof^a Dr^a Neide Queiroz

Prof. Dr. Antônio Gouveia de Souza

ABSTRACT

This dissertation consisted of applying (3,4-diaminotoluene, 1,2-diaminobenzene and diphenylamine) aromatic amines as antioxidant additives for biodiesel. Amino compounds were used in pure form, and combined with other amine or with the phenolic antioxidants TBHQ, BHA and BHT, commonly used in biodiesel. A preliminary evaluation of the antioxidants potential was carried out using the DPPH method and β -carotene/linoleic acid system. The results showed that these compounds are free radical terminators, thus acting as primary antioxidants. Binary combinations consisting of two amines or one amine and one phenolic compound as well as pure antioxidant were used to assess the antioxidant effect of amines on the biodiesel. The techniques employed for evaluation on the biodiesel stability with and without antioxidant were Rancimat, Pressurized Differential Scanning Calorimetry and PetroOxy. Except for diphenylamine, the other pure antioxidants corrected efficiently the oxidative stability of biodiesel. With regard to the binary mixtures, all of them resulted on antioxidant effect in the tested biodiesel samples. Therefore, from these results, it became evident that there is a strong potential of aromatic amines to be used as antioxidants for biodiesel, as well as their binary mixtures.

Keywords: biodiesel • oxidative stability • antioxidants • aromatic amines

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo geral	3
2.2. Objetivos específicos	3
3. REVISÃO DE LITERATURA	4
3.1. Biodiesel	4
3.2. Estabilidade do biodiesel	5
3.3. Aplicação de antioxidantes em biodiesel	7
3.4. Biodiesel do óleo de soja	12
3.5. Biodiesel do óleo de algodão	13
3.6. Métodos acelerados de avaliação da estabilidade oxidativa	15
4. EXPERIMENTAL	18
4.1. Materiais	18
4.2. Determinação da atividade antirradicalar	18
4.2.1. Método de redução do radical DPPH	18
4.2.2. Método do sistema β -caroteno/ácido linoleico	19
4.3. Síntese do biodiesel	20
4.4. Características físico-químicas do biodiesel	21
4.4.1. Índice de acidez	21
4.4.2. Viscosidade cinemática	21
4.4.3. Ponto de fulgor	21
4.4.4. Massa específica/densidade	21
4.4.5. Ponto de névoa	22
4.4.6. Ponto de fluidez	22
4.4.7. Ponto de entupimento de filtro a frio	22
4.4.8. Teor de água	22
4.5. Avaliação da estabilidade oxidativa do biodiesel	22
4.5.1. Método EN 14112 - Rancimat	22
4.5.2. PetroOXY	22
4.5.3. Calorimetria Diferencial de Varredura Pressurizada (P-DSC)	23
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5.1. Métodos de atividade antioxidante	24
5.1.1. Método do sequestro do radical DPPH	24
5.2. Método do sistema β -caroteno/ácido linoleico	31
5.3. Avaliação da estabilidade oxidativa do biodiesel por técnicas aceleradas	32
5.3.1. Biodiesel de soja aditivado com antioxidantes nitrogenados e compostos fenólicos	33
5.3.2. Biodiesel de algodão aditivado com antioxidantes nitrogenados e compostos fenólicos.	38
6. CONCLUSÃO	46
7. REFERÊNCIAS	47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema reacional da reação de transesterificação catalisada por ácido ou base....	5
Figura 2 - Esquema das possíveis reações na auto-oxidação de uma molécula de éster insaturada.	6
Figura 3 - Mecanismo de atividade de um antioxidante primário (AH).	8
Figura 4 - Exemplos de aminas utilizadas como antioxidantes em biodiesel.	9
Figura 5 - Estruturas químicas de alguns antioxidantes comumente usados no biodiesel.....	10
Figura 6 - Possível mecanismo da atividade antioxidante de um di-hidroxibenzeno.	11
Figura 7 - Estabilidade oxidativa de diferentes matrizes avaliada pelo método PetroOxy.....	16
Figura 8 - Esquema reacional entre o radical DPPH e um composto antioxidante.	24
Figura 9 - Estruturas químicas das aminas aromáticas e dos compostos fenólicos.	25
Figura 10 - Mecanismo proposto da estabilização da amina DAB na presença do radical DPPH.....	26
Figura 11 - Estruturas de ressonância propostas para a dispersão do elétron do radical ácido cafeico.	27
Figura 12 - Representação da possível ação sinérgica entre DAB e BHA.....	30
Figura 13 - Possíveis reações mostrando a regeneração do radical A ₁ NH produzido no ensaio DPPH.....	30
Figura 14 – Fator de proteção dos antioxidantes em função da concentração.....	36
Figura 15 – Variação dos valores de HPOIT em função da concentração do antioxidante....	37
Figura 16 – Valores de HPOIT para as amostras de BMS com e sem antioxidante.....	38
Figura 17 – Valores de HPOIT para as amostras BMA com e sem antioxidante.....	41
Figura 18 – Variação do PI em função da variação da concentração do antioxidante.....	43
Figura 19 – Valores de PI para as amostras de BMA com e sem antioxidante.	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição dos ácidos graxos presente no do óleo de soja.....	13
Tabela 2 - Composição dos ácidos graxos presente no óleo de algodão.....	14
Tabela 3 - Atividade antirradicalar dos antioxidantes pelo método DPPH.....	25
Tabela 4 - Atividade antirradicalar das misturas dos antioxidantes pelo método DPPH.....	27
Tabela 5 - Valores de atividade antioxidante (AA) e efeito da mistura obtidos no ensaio DPPH.....	28
Tabela 6 - Dados obtidos no ensaio β -caroteno/ácido linoleico.....	31
Tabela 7 - Parâmetros físico-químicos para os biodieseis metílicos de soja e algodão.	32
Tabela 8 - Valores de período de indução para as amostras de BMS com e sem aditivo antioxidante.....	33
Tabela 9 - Valores de HPOIT das amostras de biodiesel de soja determinado por P-DSC. ...	35
Tabela 10 - Valores de HPOIT das amostras de BSM aditivados com misturas binárias.	36
Tabela 11 - Valores de HPOIT das amostras de BMA aditivadas com antioxidantes fenólicos e aminados.....	39
Tabela 12 - Valores de HPOIT das amostras de BMA aditivadas com misturas binárias.	40
Tabela 13 - Período de indução das amostras de BMA com e sem antioxidante obtido por PetroOxy.....	42
Tabela 14 - Período de indução para as amostras BMA aditivadas com misturas binárias de antioxidantes.....	43

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

A[•] – Radical do antioxidante
AA – Molécula estável formada a partir de dois radicais do antioxidante
AC – Ácido cafeico
ANP – Agência Nacional de Petróleo Gás Natural e Biocombustíveis
B5 – Mistura de 5% de biodiesel ao diesel de petróleo
B7 – Mistura de 7% de biodiesel ao diesel de petróleo
B100 – Biodiesel puro
BHA – *terc*-butil-4-hidroxianisol
BHT – 2,6-di-*terc*-butil-4-metilfenol
BMS – Biodiesel metílico de soja
BMA – Biodiesel metílico de algodão
DAB – 1,2-diaminobenzeno
DAB/BHA – 1,2-diaminobenzeno/ *terc*-butil-4-hidroxianisol
DAB/BHT – 1,2-diaminobenzeno/2,6-di-*terc*-butil-4-metilfenol
DAB/DAT – 1,2-diaminobenzeno/ 3,4-diaminotolueno
DAB/DIF – 1,2-diaminobenzeno/ difenilamina
DAB/TBHQ – 1,2-diaminobenzeno/ *terc*-butilhidroquinona
DAT – 3,4-diaminotolueno
DIF – difenilamina
DPPH – Radical 2,2-difenil-2-picrilhidrazil
DTBHQ – 2,5-di-*terc*-butil hidroquinona
E[•] – Radical do éster
EH – molécula de éster insaturada
EM – Efeito da mistura
EN14112 – Método rancimat
ERO_s – Espécies reativas de oxigênio
HPOIT – Tempo de indução oxidativa a altas pressões
I – Espécie iniciadora
NO_x – Óxidos de nitrogênio
NO[•] – Radical óxido nítrico
NO₂[•] – Radical dióxido nítrico
[•]OH – Radical hidroxila
O₂^{•□} – Ânion superóxido
[•]OOH – Radical hidroperoxila
P-DSC – Calorimetria diferencial de varredura pressurizada
PG – Propilgalato
PA – Pirogalol
PI – Período de indução
RO[•] – Radical alcóxila
ROO[•] – Radical peróxila
TBHQ – *terc*-butilhidroquinona

INTRODUÇÃO

1. Introdução

Nos processos de degradação do biodiesel a composição de ésteres desempenha um papel significativo na sua estabilidade oxidativa, visto que um teor elevado de ésteres insaturados acelera a formação de compostos indesejáveis. Os produtos da oxidação não afetam apenas as propriedades do biodiesel, mas também trazem problemas operacionais e de manutenção de veículos e geradores. Entre os biocombustíveis mais suscetíveis à oxidação encontram-se os biodieseis de soja, de algodão e de girassol, todos com elevado percentual de ésteres com cadeias insaturadas. O mercado brasileiro tem focado a produção de biodiesel usando principalmente o óleo de soja, pois a oleaginosa tem uma logística e ciclo tecnológico desenvolvido para atender à demanda. Cabe salientar que o sebo bovino e óleo de algodão correspondem a segunda e terceira fontes de matéria-prima brasileira, respectivamente.

De acordo com a Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) (1) todo biodiesel comercializado no Brasil deve apresentar um período de indução (PI) mínimo de 6 horas, avaliado através do método EN 14112 (2). Esse critério de avaliação torna imprescindível o desenvolvimento de medidas que elevem a estabilidade do biodiesel. No que diz respeito a esse parâmetro, o uso de misturas de biodiesel tem mostrado eficiência, em muitos casos resultou em PI acima de 6 h (3). Nessas misturas, o biodiesel com maior teor de ésteres de ácidos graxos saturados e monoinsaturados é misturado a um biodiesel com menor conteúdo desses ésteres. No entanto é o uso de antioxidantes que tem garantido a estabilidade oxidativa ao biodiesel comercial. A adição de um antioxidante ou mistura de antioxidantes eleva o PI do biodiesel acima de 6 h e assim favorece a comercialização, o tempo de estocagem e a redução de depósitos formados em tanques de armazenamento (4).

Os antioxidantes agem interferindo no processo oxidativo do biodiesel através da remoção de radicais livres formados durante a etapa de iniciação da auto-oxidação. Entre os antioxidantes mais eficazes estão *terc*-butil-hidroquinona (TBHQ), 2,6-di-*terc*-butil-4-metilfenol (BHT), pirogalol (PA) e propilgalato (PG) (5). As concentrações efetivas destes antioxidantes geralmente estão entre 200 a 1.000 mg.kg⁻¹ (6). Outros antioxidantes testados incluem α -tocoferol (7), derivados de ácidos cinâmicos, por exemplo, ácido cafeico e ácido ferúlico (4), curcumina e β -caroteno (8).

Poucos trabalhos na literatura reportam o uso de aminas aromáticas como aditivo antioxidante para o biodiesel (9; 10; 11). Os resultados obtidos por alguns pesquisadores mostraram que a estabilidade do biodiesel foi melhorada com a adição dos compostos 4-octil-

N-fenilanilina (9), N,N'-difenil-p-fenilenodiamino (10) e poli (1,2-di-hidro-2,2,4-trimetilquinolina) (11).

Neste sentido é importante investigar a eficiência de antioxidantes aminados não avaliados, puros ou em misturas binárias, na proteção do biodiesel com baixa estabilidade oxidativa.

OBJETIVOS

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Avaliar a eficiência de amins aromáticas no controle da degradação oxidativa do biodiesel de soja e de algodão.

2.2. Objetivos específicos

- Verificar através do método DPPH a atividade antirradicalar das amins aromáticas (1,2-diaminobenzeno, 3,4-diaminotolueno e difenilamina), dos compostos fenólicos (ácido cafeico, *terc*-butil-4-hidroxianisol) e de misturas binárias constituídas de duas amins ou de uma amina e de um composto fenólico;
- Selecionar a amina aromática e a mistura binária com maior atividade antirradicalar, verificada no sequestro do radical DPPH, para investigar a eficiência na inibição da oxidação do β -caroteno, usando para esse propósito o método β -caroteno/ácido linoleico;
- Utilizar os compostos 1,2-diaminobenzeno, 3,4-diaminotolueno, difenilamina, ácido cafeico, *terc*-butil-4-hidroxianisol, *terc*-butil-hidroquinona e 2,6-di-*terc*-butil-4-metilfenol em diferentes concentrações como aditivos antioxidantes para o biodiesel de soja e de algodão;
- Usar as misturas binárias constituídas de duas amins ou de uma amina e de um composto fenólico como aditivo antioxidante para o biodiesel de soja e de algodão;
- Avaliar a influência dos antioxidantes puros e das misturas binárias na estabilidade oxidativa do biodiesel pelas técnicas: PetroOxy, Rancimat e Calorimetria Diferencial de Varredura Pressurizada;
- Verificar o efeito inibitório combinado dos antioxidantes utilizados nas misturas binárias no sequestro do radical DPPH, inibição da oxidação do β -caroteno e na proteção dos biodieseis;
- Comparar a eficiência dos antioxidantes aminados e fenólicos na proteção contra a degradação oxidativa do biodiesel de soja e de algodão.

REVISÃO DA LITERATURA

3. Revisão de literatura

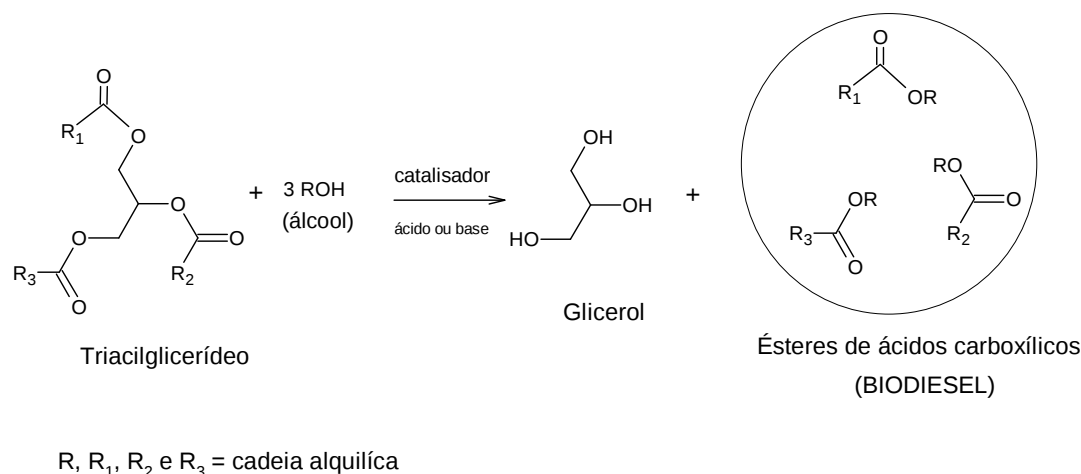
3.1. Biodiesel

O biodiesel é um biocombustível que pode ser usado puro ou misturado ao diesel em diversas proporções em motores automotivos (de caminhões, tratores, camionetes, automóveis, etc.) ou estacionários (geradores de eletricidade, calor, etc.). Assim como o Brasil, outros países como Alemanha, Argentina, Estados Unidos, França, Itália e Malásia utilizam o biodiesel. Em 2013 o total de biodiesel consumido no Brasil chegou a 2,9 bilhões de litros. A estimativa de crescimento do consumo para 2014 está pautada na mudança de B5 (5% de biodiesel no diesel) para B7 (mistura de 7%) que passa a vigorar a partir de novembro deste ano (1).

A matéria-prima para produção do biodiesel é bastante diversificada como mamona, dendê (palma), girassol, algas, babaçu, amendoim, pinhão manso, soja, dentre outras (12; 13). É indispensável destacar que o biodiesel obtido a partir de produtos não alimentícios seria o mais interessante, considerando-se os problemas sociais relacionados à escassez de alimento, em todo o mundo. Entretanto, de acordo com o boletim da ANP de Março de 2014, o óleo de soja corresponde a 73,92% da matéria-prima usada para produção de biodiesel, cabendo salientar que o sebo bovino constitui a segunda maior fonte graxa (21,21%), seguido pelo óleo de algodão (2,45%). As demais fontes são gorduras residuais, óleos de cozinha reciclados, gorduras de porco, entre outros (1).

Dentre os processos de obtenção do biodiesel, a reação de transesterificação de triacilglicerídeos (componente principal dos óleos vegetais e gorduras animais) é a mais comumente usada e forma como produto ésteres de ácidos carboxílicos, Figura 1. A reação pode ser catalisada por ácidos ou bases (de Bronsted ou Lewis) e tem como principal subproduto a glicerina, podendo conter teores apreciáveis de mono- di- e triglicerídeos, de catalisador e de álcool, dependendo da eficiência da reação. O álcool mais utilizado na obtenção do biodiesel é o metanol, que promove melhores rendimentos. Considerando que o Brasil é um dos maiores produtores de álcool etílico (etanol) no mundo, há um estímulo para a substituição do metanol pelo etanol, gerando um combustível agrícola totalmente independente da indústria do petróleo. No processo convencional de transesterificação via catálise básica homogênea para a obtenção do biodiesel, a natureza e a proporção das cadeias graxas permanecem praticamente inalteradas em relação à matéria-prima. Desse modo, a variabilidade na composição dos biodieseis segue a de seus óleos e gorduras de origem.

Figura 1 - Esquema reacional da reação de transesterificação catalisada por ácido ou base.



Outro processo de obtenção do biodiesel é a reação de esterificação de gorduras animais e óleos vegetais (14; 15).

3.2. Estabilidade do biodiesel

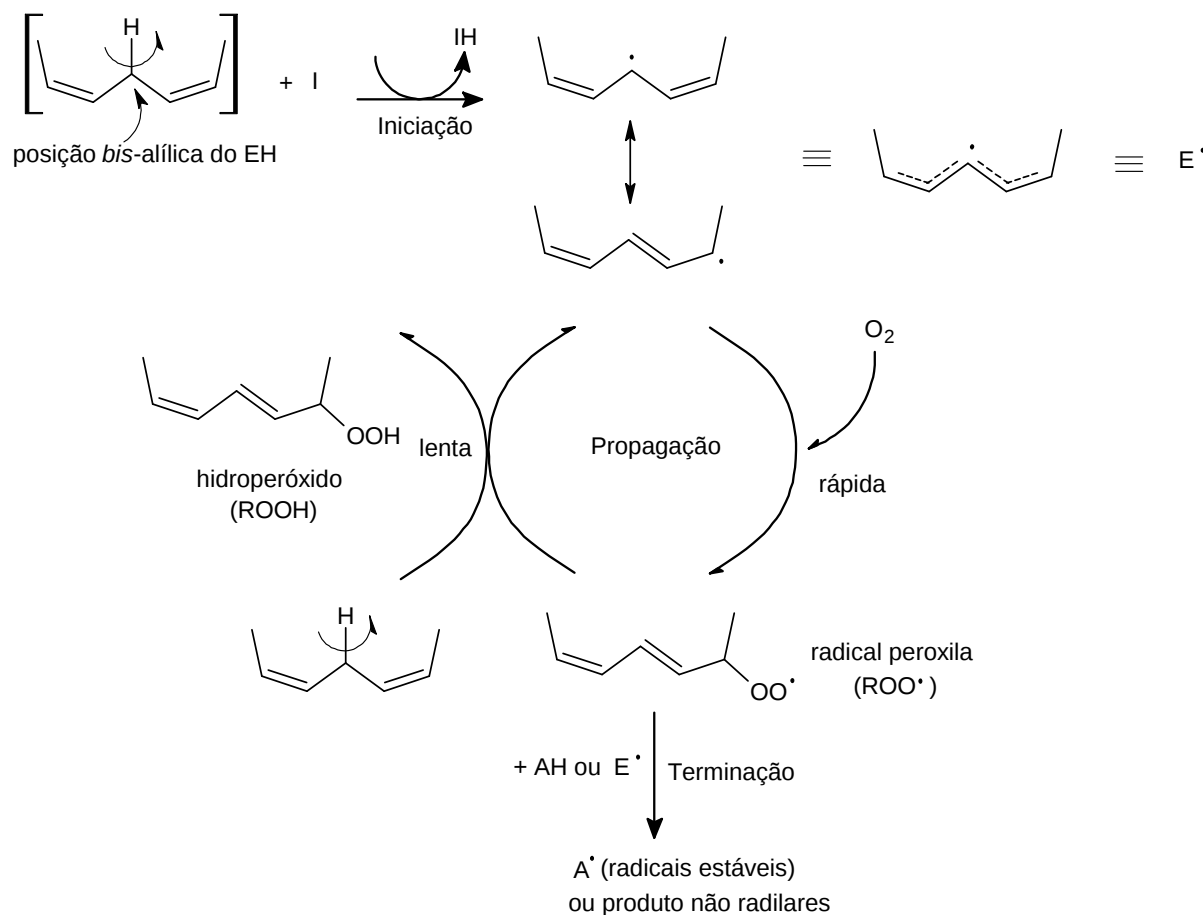
Como mencionado anteriormente, a estabilidade oxidativa constitui um parâmetro de grande relevância para o controle da qualidade do biodiesel, uma vez que o atendimento a esse requisito influi nas suas propriedades, desde o momento da sua síntese e purificação, passando pelo de estocagem, distribuição e, finalmente, durante o seu armazenamento e uso. A oxidação do biodiesel depende de variáveis tais como temperatura, presença de metais, exposição à luz e ao ar. A susceptibilidade à oxidação também depende da composição de ésteres, sendo mais estáveis os biodieseis com maior teor ésteres de ácidos graxos saturados.

Os mecanismos de degradação do biodiesel são a auto-oxidação na presença de oxigênio atmosférico, degradação térmica ou termo-oxidativa, contaminação microbiana, hidrólise a partir do contato com água ou umidade nos tanques e linhas de combustível (16).

No processo de auto-oxidação do biodiesel as posições *bis*-alílicas nos ésteres poli-insaturados são mais propensas à oxidação do que posições alílicas (17). De acordo com dados reportados na literatura, os ésteres derivados do ácido linolênico são mais facilmente oxidados do que aqueles oriundos dos ácidos linoleico e oleico. Isto ocorre porque a energia necessária para a cisão homolítica das ligações C-H na posição *bis*-alílica é menor, pois a formação de radicais livres é energeticamente favorável. A presença destes ésteres causa ao biodiesel uma menor instabilidade em relação ao diesel de petróleo (3).

A degradação do biodiesel via auto-oxidação é descrita como uma reação radicalar em cadeia, sendo que a velocidade do processo é limitada pelas fases de iniciação e propagação (18). A Figura 2 mostra o mecanismo proposto para a reação em cadeia da auto-oxidação de uma molécula de éster insaturado contendo átomos hidrogênicos na posição *bis*-alílica.

Figura 2 - Esquema das possíveis reações na auto-oxidação de uma molécula de éster insaturada.



Fonte: Adaptado de (18). EH é uma molécula de éster insaturado. E• é um radical éster. AH representa uma molécula de antioxidante e A• o radical do antioxidante. I é um iniciador da reação em cadeia.

A iniciação é caracterizada pela formação de radicais livres, em que os ésteres de ácido graxos poli-insaturados são atacados por uma espécie suficientemente reativa (I). De acordo com Varatharajan *et al.* (19) as espécies mais importantes são os radicais hidroperoxila (•OOH), hidroxila (HO•), alcóxila (RO•) e peróxila (ROO•), ânion superóxido (O₂^{•-}), radical óxido nítrico (NO•), radical dióxido nítrico (NO₂•). Estes radicais são capazes de abstrair um átomo de hidrogênio a partir de um grupo metileno (–CH₂–), formando um radical éster (E•). Este radical é estabilizado por ressonância para formar um dieno conjugado.

Na etapa de propagação o radical $E^{\bullet}$ combina com o oxigênio formando o radical peroxila ($ROO^{\bullet}$), o qual pode abstrair um hidrogênio *bis*-alílico de outra molécula de éster, gerando outro radical $E^{\bullet}$ e promovendo a etapa de propagação. A reação do radical peroxila ($ROO^{\bullet}$) com o átomo de hidrogênio abstraído gera um hidroperóxido lipídico ($ROOH$). Os peróxidos cíclicos também podem ser formados quando o radical peroxila reage com uma dupla ligação na mesma cadeia do éster, o que também pode propagar oxidação. Esse é um processo que ocorre em cadeia, e os hidroperóxidos ($ROOH$) formados nesta etapa constituem os produtos primários da oxidação (20).

A etapa de terminação é caracterizada pela combinação dos radicais, a qual forma produtos não radicalares, tais como: aldeídos, cetonas, ácidos carboxílicos, peróxidos e polímeros. Esses compostos modificam as propriedades físico-químicas do biodiesel e consequentemente o funcionamento do motor. É observado que a oxidação do biodiesel aumenta a densidade, a viscosidade cinemática, o índice de acidez e o índice de peróxidos, e diminui os valores de índice de iodo e ésteres alquílicos. Outras propriedades afetadas incluem o número de cetano, ponto de fulgor, índice de refração, e a constante dielétrica (21; 20).

O processo da auto-oxidação pode ser retardado diminuindo os fatores que contribuem para o seu aumento, como por exemplo, manter ao mínimo os níveis de energia (temperatura e luz), evitar a presença de traços de metais e impedir ao máximo o contato com oxigênio. O uso de antioxidantes tem sido um recurso muito empregado para aumentar o tempo de vida útil do biodiesel (11).

3.3. Aplicação de antioxidantes em biodiesel

Os antioxidantes são substâncias que diminuem significativamente ou inibem o processo de degradação oxidativa de vários produtos, tais como: biodiesel, óleos e gorduras, tintas, polímeros, cosméticos e comidas. Para o biodiesel, os mais utilizados são os antioxidantes primários, que atuam como sequestradores de radicais livres e retardam ou inibem a etapa de iniciação ou interrompem a etapa de propagação da auto-oxidação (20). Outros tipos de antioxidantes incluem os queladores de metais, removedores de oxigênio, sinergistas e biológicos (22).

A Figura 3 ilustra equações que mostram a atuação de antioxidantes primários (AH) no processo da auto-oxidação do biodiesel (23). O átomo de hidrogênio ativo do antioxidante é abstraído pelos radicais peroxila ($ROO^{\bullet}$) e do éster ($E^{\bullet}$) com maior facilidade que os

hidrogênios alílicos das moléculas de éster insaturadas (EH), Equações 1 e 2, respectivamente. Assim formam-se espécies inativas para a reação em cadeia e um radical inerte ($A^\bullet$) procedente do antioxidante. Este radical, estabilizado por ressonância, não tem a capacidade de iniciar ou propagar as reações oxidativas. A reação com radicais alcóxidos ($RO^\bullet$) também é possível e desta forma diminui a decomposição de hidroperóxidos a produtos de degradação nocivos, Equação 3. Os radicais $A^\bullet$ são capazes de participar nas reações de terminação com $ROO^\bullet$ (Equação 4), $RO^\bullet$ (Equação 5), ou $A^\bullet$ (Equação 6).

Figura 3 - Mecanismo de atividade de um antioxidante primário (AH).

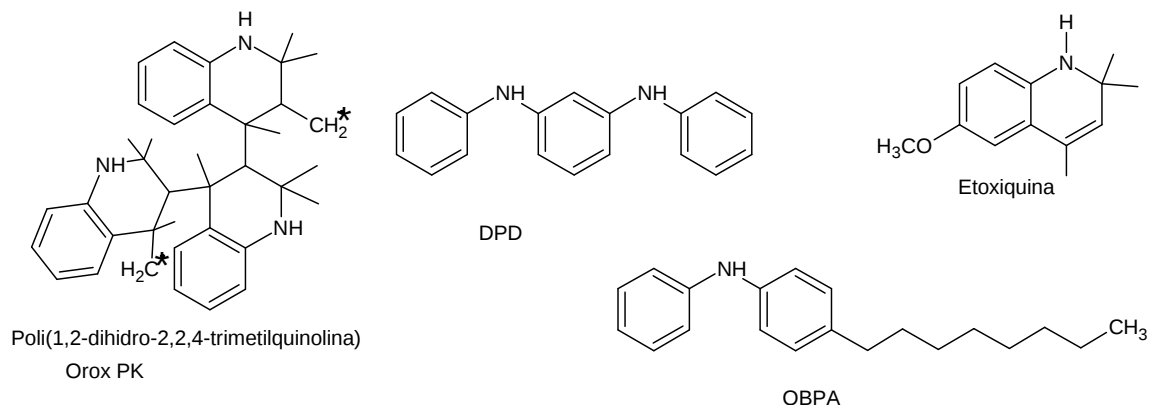
$ROO^\bullet + AH \rightarrow ROOH + A^\bullet$	Eq. 1
$E^\bullet + AH \rightarrow EH + A^\bullet$	Eq. 2
$RO^\bullet + AH \rightarrow ROH + A^\bullet$	Eq. 3
$ROO^\bullet + A^\bullet \rightarrow ROOA$	Eq. 4
$RO^\bullet + A^\bullet \rightarrow ROA$	Eq. 5
$A^\bullet + A^\bullet \rightarrow AA$	Eq. 6

Fonte: Adaptado de (23). EH é uma molécula de éster insaturado. $E^\bullet$ é um radical éster. AH representa uma molécula de antioxidante e $A^\bullet$ o radical do antioxidante. $ROO^\bullet$ é um radical peroxila e $RO^\bullet$ um radical alcóxila.

A eficiência dos antioxidantes é influenciada pelas propriedades químicas dos compostos, assim este fator está intrinsecamente relacionado com as suas estruturas moleculares. A habilidade do antioxidante na doação do hidrogênio tem um efeito muito importante na sua atividade, pois o átomo de hidrogênio é liberado de ligações fracas O–H e N–H de compostos fenólicos e aminas aromáticas, respectivamente (19).

As aminas aromáticas são classificadas como antioxidantes primários, pois o átomo de hidrogênio da ligação N–H é abstraído por radicais gerados na auto-oxidação do biodiesel, tais como exemplificado na Figura 3. A ação antioxidante de compostos nitrogenados e a influência dos mesmos na estabilidade oxidativa do biodiesel têm sido reportadas por poucos pesquisadores. Exemplos de compostos nitrogenados utilizados como antioxidantes em biodiesel são mostrados na Figura 4.

Figura 4 - Exemplos de aminas utilizadas como antioxidantes em biodiesel.



Sarin *et al.* (9) avaliou a estabilidade oxidativa do biodiesel de palma contaminado com metais de transição e aditivado com amina 4-octil-N-fenilanilina (OBPA) e três compostos fenólicos. Os autores verificaram que pequenas quantidades destes metais foram suficientes para reduzir a estabilidade do biodiesel e que as amostras aditivadas com os antioxidantes apresentaram um menor dano nessa propriedade. A maior eficiência foi verificada para o antioxidante TBHQ.

De acordo com Focke *et al.* (11) a estabilidade do biodiesel de girassol foi aumentada com o uso do composto poli (1,2-di-hidro-2,2,4-trimetilquinona), conhecido pela sigla Orox PK. Este composto mostrou melhor eficiência que o antioxidante DTBHQ (2,5-di-terc-butil-1,4-di-hidroxibenzeno). Entretanto, o aumento no PI não foi suficiente para atender o valor especificado na norma americana ASTM D-6751, que estipula um PI mínimo de três horas.

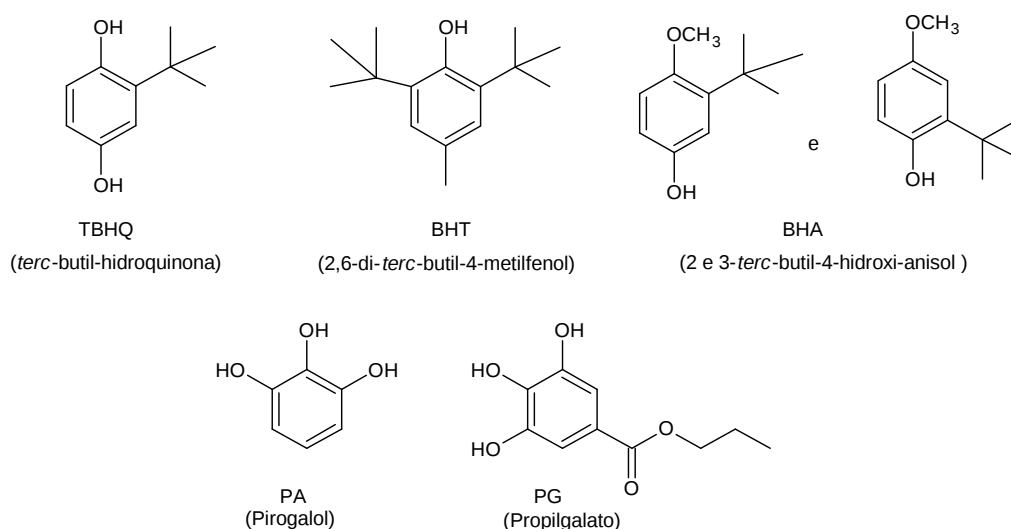
A influência do antioxidante comercial a base de etoxiquina (6-etoxi-2,2,4-trimetil-1,2-dihidroquinolina) e 2,6-di-terc-butilfenol na estabilidade oxidativa de amostras de biodiesel foi estudada por Schneider (2009) e Serrano *et al.* (2013). Os resultados mostraram aumento na estabilidade oxidativa do biodiesel, contudo, quando comparado aos demais aditivos, teve uma menor eficiência (24; 25).

Outro trabalho que reporta o uso de amina em biodiesel foi desenvolvido por Xin *et al.* (10). O composto N,N'-difetilbenzeno-1,3-diamino (DPD) aumentou o período de indução de amostras biodiesel. A maior eficiência foi observada no biodiesel com mais alta estabilidade oxidativa.

Os antioxidantes também podem diminuir a emissão de NO_x liberado de um motor a diesel alimentado com biodiesel. Varatharajan *et al.* (19) verificou que o uso do antioxidante N,N'-difetil-1,4-fenilenodiamina reduziu em 25% as emissões de NO em todas as cargas do motor, porém, estas emissões estão bem abaixo dos níveis de emissão do diesel.

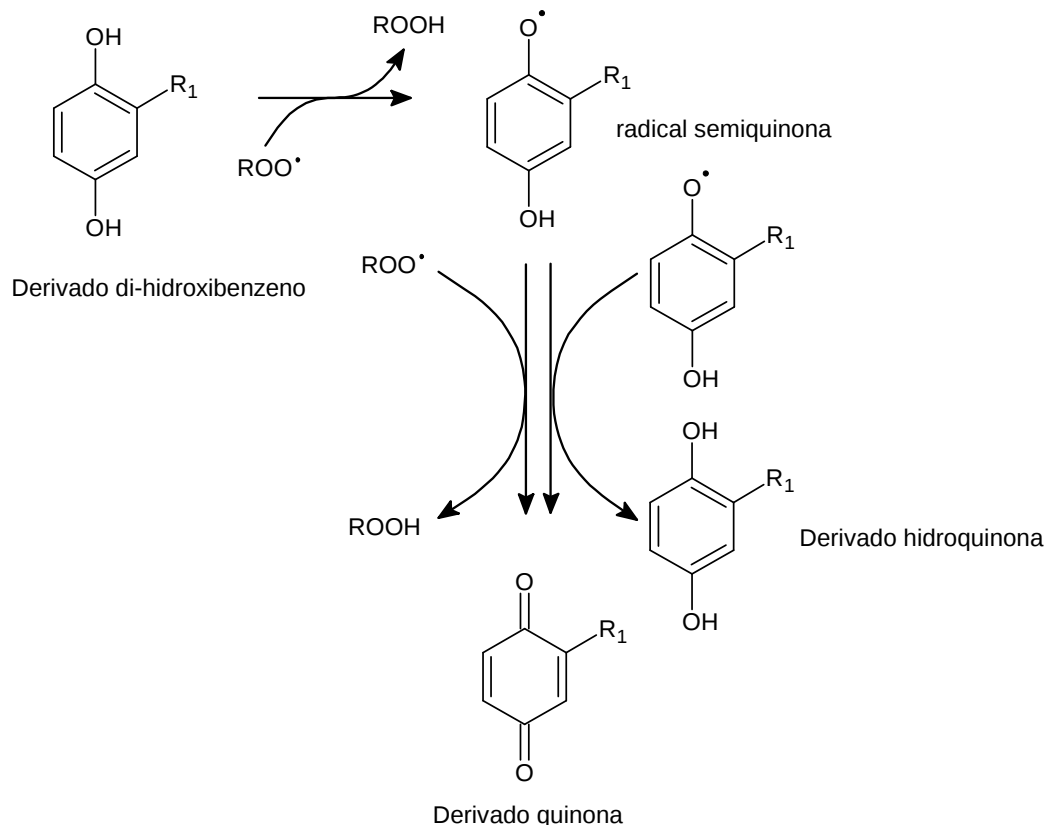
Muitos trabalhos da literatura reportam a eficiência de antioxidantes fenólicos em aumentar a estabilidade oxidativa de biodiesel (4; 5; 20; 25-27). Na indústria, os compostos fenólicos TBHQ (*tert*-butil-hidroquinona), BHT (2,6-di-*tert*-butil-4-metilfenol), BHA (2-e 3-*tert*-butil-4-hidroxianisol), PG (propilgalato) e PA (pirogalol) são usados como antioxidantes para aumentar a estabilidade oxidativa dos biocombustíveis. A característica comum entre estes antioxidantes é que são mono- ou poli-hidroxifenóis com vários substituintes no anel aromático, Figura 5.

Figura 5 - Estruturas químicas de alguns antioxidantes comumente usados no biodiesel.



Os antioxidantes fenólicos que apresentam grupos doadores de elétrons na posição *orto* ou *para* em relação ao grupo hidroxila do fenol aumenta a atividade antioxidante do composto por um efeito indutivo (por exemplo, BHA). Grupo alquila ramificado na posição *orto* aumenta a habilidade da molécula em formar uma estrutura de ressonância estável, que reduz a participação dos radicais do antioxidante em reações de propagação. A presença de um segundo grupo hidroxila na posição *orto* ou *para* do fenol também aumenta a atividade (por exemplo, TBHQ). Isto ocorre porque nos derivados di-hidroxibenzeno, o radical semiquinona produzido inicialmente pode ser posteriormente oxidado a quinona através da reação com outro radical do éster, Figura 6. Este radical semiquinona pode disporporcionar em uma molécula de quinona e uma hidroquinona, e o processo desta conversão contribui para a atividade antioxidante (23).

Figura 6 - Possível mecanismo da atividade antioxidante de um di-hidroxibenzeno.



Fonte: Adaptado de (23) R é um grupo alquila. ROO• um radical peróxido e ROOH um hidroperóxido.

Os antioxidantes podem ser utilizados puros ou em combinação com outros compostos, sendo possível obter três efeitos diferentes de misturas binárias de antioxidantes:

1. Um efeito sinérgico se o antioxidante menos eficiente regenera o mais eficiente;
2. Um efeito antagonístico se o mais eficiente regenera o menos eficiente;
3. Nenhum efeito se ambos os antioxidantes tem a mesma eficiência (28).

Maia *et al.* (29) analisaram misturas binárias e ternárias de antioxidantes utilizando como ferramenta a aplicação do modelo simplex centróide. Através dos resultados obtidos verificou-se que o tratamento contendo o antioxidante TBHQ, isoladamente, mostrou-se o mais eficiente para aumentar a estabilidade oxidativa de biodiesel de óleo de soja, fato comprovado pelo delineamento, pela mistura ótima obtida e pela constante de velocidade. Misturas binárias e ternárias contendo TBHQ também apresentaram apreciável efeito antioxidante sobre o biocombustível.

Diversas técnicas utilizam a atividade antioxidante de forma a definir quais substâncias tem um potencial relevante na inibição da formação de radicais livres, produtos das reações de oxidação. Dentre estas técnicas, destacam-se o método que avalia a atividade sequestradora do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) e o método do sistema β -caroteno/ácido linoleico, ambos métodos espectrofotométricos, analisados pela variação da absorbância. O método do radical DPPH consiste em avaliar a atividade sequestradora dos antioxidantes na presença deste radical. O mecanismo ocorre através da ação de um antioxidante ou uma espécie radicalar, que ao reagir com o radical DPPH forma a molécula difenil-picril-hidrazina, estável, reduzida e apresenta coloração amarela (30).

O ensaio β -caroteno/ácido linoleico na presença de oxigênio molecular (O_2) avalia o efeito inibitório de um composto ou de uma mistura na oxidação de β -caroteno. A reação entre os radicais oriundos da oxidação do ácido linoleico e da molécula de β -caroteno altamente insaturada produz uma redução na quantidade de β -caroteno, que pode ser observada pela descoloração da solução. A presença de antioxidantes minimizará a oxidação do β -caroteno, em razão dos radicais formados no sistema serem neutralizados pelos antioxidantes. Assim, a velocidade de degradação do β -caroteno depende da atividade do antioxidante presente no sistema (31).

3.4. Biodiesel do óleo de soja

O fato da oleaginosa soja (*Glycine max*) ser a principal matéria-prima utilizada no Brasil para obtenção de biodiesel não está relacionado ao teor de óleo presente na semente. Comparada a outras oleaginosas o teor de 18% de óleo é baixo, entretanto o cultivo da soja é fácil, a logística e o ciclo tecnológico são desenvolvidos para atender a demanda do mercado. O óleo de soja, que surgiu como um subproduto do processamento do farelo tornou-se um dos líderes mundiais no mercado de óleos.

Na composição química do óleo de soja predomina ácidos graxos insaturados (32), em especial ácido linoleico, Tabela 1. Outros componentes tais como: fitoesteróis, ceras, hidrocarbonetos, carotenóides, tocoferóis e fosfatídeos podem ser encontrados em pequenas quantidades.

Tabela 1 - Composição dos ácidos graxos presente no do óleo de soja.

Ácidos Graxos	Contribuição percentual (%)
Ácido mirístico (C14:0)	< 0,5
Ácido palmítico (C 16:0)	7,0 – 14,0
Ácido palmitoléico (C 16:1)	< 0,5
Ácido esteárico (C 18:0)	1,4 – 5,5
Ácido oleico (C 18:1)	19,0 – 30,0
Ácido linoleico (C 18:2)	44,0 – 62,0
Ácido linolênico (C18:3)	4,0 – 11,0
Ácido araquídico (C 20:0)	< 0,1
Ácido eicosenóico (C 20:1)	< 0,1
Ácido behênico (C 22:0)	< 0,5

Conforme mencionado anteriormente a variabilidade na composição dos biodieseis segue a de seus óleos e gorduras de origem. Portanto, de acordo com a Tabela 1, o biodiesel de soja também apresenta alto teor de ésteres derivados de ácidos graxos insaturados. O biocombustível constituído principalmente destes ésteres apresenta baixa estabilidade oxidativa e o interesse em melhorar esta propriedade é o foco de muitos trabalhos científicos.

O efeito de antioxidantes na estabilidade oxidativa do biodiesel de soja foi estudado por vários pesquisadores. Damasceno *et al.* (4) reportaram que o antioxidante ácido cafeico na concentração de 1.000 mg.kg⁻¹ foi eficiente para elevar e manter o período de indução do biodiesel etílico de soja acima do limite exigido pela EN 14214 durante 90 dias de armazenamento. A eficiência do ácido cafeico também foi verificada por Santos *et al.* (33) em amostras de biodiesel de soja contaminado com sais de metais. Sua atividade foi superior a de antioxidantes usuais tais como BHT e TBHQ, e na concentração de 500 mg.kg⁻¹ os valores de PI das amostras foram acima de 6 h.

O efeito de cinco antioxidantes fenólicos foi investigado por Ryu (34) sobre a estabilidade oxidativa do biodiesel de soja. Os resultados encontrados apontam que a eficiência dos antioxidantes na estabilidade oxidativa foi TBHQ>PG>BHA>BHT> α -tocoferol. Além disso, o estudo demonstrou que os antioxidantes tiveram pouco efeito sobre as emissões do escape de um motor diesel movido a biodiesel.

3.5. Biodiesel do óleo de algodão

A maior parte do plantio de algodão é destinada ao setor têxtil. No entanto, estudos reportam alto valor agregado à semente de algodão que tem um teor de óleo no intervalo de

18-20% (35). Uma vez que as sementes de algodão são consideradas resíduos, o óleo de algodão passa a ser uma matéria-prima de baixo custo para produção de biodiesel. No processo de extração deste óleo, a fibra é primeiramente removida das sementes e o óleo é extraído através de um processo de prensagem. Na composição do óleo predomina os ácidos insaturados, sendo 24% de oleico (C18:1) e 45% de linoleico (C18:2), Tabela 2 (36).

Tabela 2 - Composição dos ácidos graxos presente no óleo de algodão.

Ácidos Graxos	Contribuição Percentual (%)
Ácido palmítico (C16:0)	16,3
Ácido palmitoleico (C16:1)	0,2
Ácido esteárico (C18:0)	5,2
Ácido oleico (C18:1)	24,3
Ácido linoleico (C18:2)	44,9
Ácido linolênico (C18:3)	5,4

O biodiesel obtido a partir do óleo de algodão, assim como o oriundo do óleo de soja apresenta baixa estabilidade oxidativa. Os trabalhos envolvendo aplicação de antioxidantes neste biodiesel ainda são poucos, apesar do óleo de algodão ser uma matéria-prima importante na produção do biodiesel brasileiro.

A influência de antioxidantes sintéticos e naturais, tais como alfa-tocoferol, BHA, BHT, TBHQ, DTBHQ, Ionol BF200, PG e PA em biodiesel de algodão, foi estudada por Tang *et al.* (27), analisando a estabilidade oxidativa através da técnica Rancimat. A aditivação do biodiesel com os antioxidantes variou nas concentrações de 250 até 1.000 ppm. O biodiesel de algodão apresentou um período de indução inicial de 6,6 horas, enquanto que para as aditivações, a ordem decrescente de efetividade foi: TBHQ>PA>PG>DTBHQ. Os demais antioxidantes não produziram aumento significativo no período de indução.

O antioxidante cardanol hidrogenado foi avaliado por Rodrigues *et al.* (37) como aditivo para o biodiesel etílico de algodão. O biodiesel aditivado apresentou valor de HPOIT (tempo de indução oxidativa a alta pressão) superior ao da amostra sem o antioxidante.

Fernandes *et al.* (38) verificaram o efeito de TBHQ na estabilidade oxidativa de biodiesel metílico do óleo de algodão. A adição do antioxidante nas concentrações 300, 600, e 100 mg.kg⁻¹ aumentou o PI de 4,9 h para 6,7 h, 8,4 h e 10,2 h, respectivamente.

3.6. Métodos acelerados de avaliação da estabilidade oxidativa

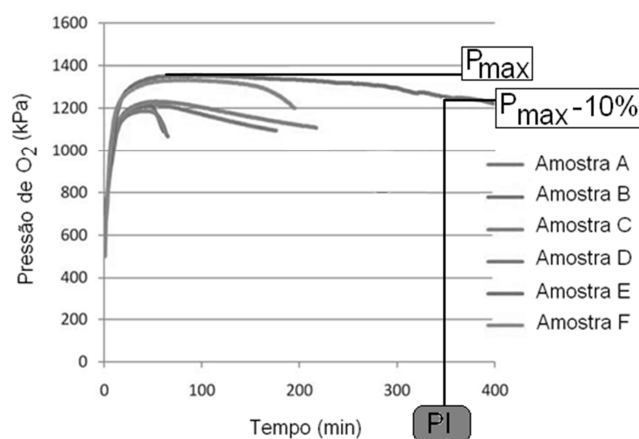
A Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, na Resolução ANP Nº 14, de 11.5.2012 - DOU 18.5.2012, estabelece a determinação da estabilidade oxidativa e o valor mínimo de período de indução (PI) de seis horas, de acordo com o método EN 14112 (Rancimat).

A formação de ácidos carboxílicos voláteis, principalmente ácido fórmico e ácido acético, na fase de oxidação secundária do biodiesel proporciona a base para o método Rancimat ser usado para avaliar a sua estabilidade oxidativa. Nesse método, um fluxo de ar com taxa constante (10 L.h^{-1}) passa pela amostra aquecida a temperatura de 110°C e arrasta os compostos voláteis para um recipiente contendo água deionizada, onde a condutividade é constantemente monitorada. A formação dos produtos da oxidação do biodiesel é indicada pelo aumento da condutividade da água. Desta forma a resistência à oxidação pode ser expressa através do seu período de indução, ou seja, o tempo necessário para que a condutividade da água aumente de forma brusca (11).

Outras técnicas aplicáveis à avaliação da estabilidade oxidativa do biodiesel incluem o PetroOxy e a calorimetria diferencial de varredura pressurizada (P-DSC).

No teste de degradação oxidativa usando PetroOxy a amostra de biodiesel é colocada em uma câmara hermeticamente fechada e submetida à pressurização em oxigênio com elevação da temperatura, propiciando uma oxidação rápida. O processo pode ser descrito em três fases, sendo representado por uma curva pressão *versus* tempo. A primeira fase inicia quando a amostra é pressurizada com oxigênio puro atingindo 700 kPa, e em seguida tem sua temperatura elevada até o valor previamente selecionado. Devido ao volume na câmara permanecer constante e a temperatura sofrer elevação, o valor da pressão aumentará gradualmente até atingir um valor máximo de acordo com a origem do biodiesel analisado. A segunda fase reflete o princípio do processo de propagação, pois indica o início do consumo de oxigênio e, conseqüentemente um decaimento lento da pressão, evidenciado por uma ligeira inclinação linear no gráfico. A terceira fase inicia quando é registrado um ponto de inflexão no gráfico apresentando uma queda considerável de pressão. Esta etapa finaliza quando é observada uma queda de 10% no valor da pressão máxima atingida na primeira fase do teste (39; 40). A Figura 7 mostra a comparação de matrizes com diferentes períodos de indução obtidos pelo método PetroOxy.

Figura 7 - Estabilidade oxidativa de diferentes matrizes avaliada pelo método PetroOxy.



Fonte: Adaptado de (41).

Na calorimetria diferencial de varredura pressurizada tem-se o controle da pressão do sistema assim como na técnica PetroOxy, possibilitando ensaios em temperaturas mais baixas e também com pouca quantidade de amostra. Os resultados da análise são obtidos diretamente da amostra, diferentemente do método Rancimat que avalia os produtos de decomposição das amostras volatilizadas.

A técnica P-DSC mede um fluxo de calor diferencial entre a amostra e o termopar de referência sob variação de temperatura e pressão (P-DSC não-isotermal) ou a uma temperatura fixa (P-DSC isotérmico). Transições endotérmicas ou exotérmicas são caracterizadas como picos e sua área é proporcional à entalpia (ΔH), expressa em Joule por grama (J/g) (42).

A oxidação do biodiesel é caracterizada por um evento exotérmico nas curvas de P-DSC. Através da curva P-DSC não isotérmico é obtida a temperatura *onset* de oxidação (OOT), útil na análise do perfil termodinâmico de uma amostra. Enquanto que a curva isotérmica fornece o tempo de indução oxidativo a altas pressões (HPOIT), o qual caracteriza o início da oxidação de uma amostra exposta a um gás oxidante (43).

Estudos focados na utilização dos dados de PDSC vêm sendo conduzidos com o intuito de obter o HPOIT de amostras, e desta forma determinar os efeitos dos tipos de antioxidantes e suas concentrações nas estabilidades de biodiesel (4; 44; 45)

Os métodos acelerados constituem técnicas analíticas de importância singular no estudo da estabilidade oxidativa, haja vista que sua aplicação acarreta economia de tempo e quantidade de amostra, entretanto a falta de correlação entre os diferentes parâmetros utilizados para determinar o grau de oxidação (formação de produtos secundários, absorção de

oxigênio, etc.) reflete de maneira não fidedigna a evolução do processo oxidativo em condições reais.

Capítulo 4

EXPERIMENTAL

4. EXPERIMENTAL

4.1. Materiais

Os compostos 3,4-diaminotolueno, 1,2-diaminobenzeno, difenilamina, ácido cafeico, *terc*-butilhidroxiquinona, 2,6-di-*terc*-butil-4-metilfenol, β -cartoteno, 2,2-difenil-1-picril-hidrazila e ácido linoleico foram adquiridos da Sigma-Aldrich. O antioxidante *terc*-butil-4-hidroxianisol foi adquirido da Vetec.

Os óleos de soja e de algodão utilizados como matérias-primas para a produção de biodiesel foram adquiridos no comércio local. De acordo com o fabricante o óleo de soja contém 0,13 mg.mL⁻¹ de α -tocoferol.

4.2. Determinação da atividade antirradicalar

4.2.1. Método de redução do radical DPPH

A atividade antirradicalar dos antioxidantes no sequestro do radical DPPH foi determinada pelo método de Brand-Willams *et al.* (46), com modificações. Para a realização deste ensaio foram preparadas soluções de antioxidantes em metanol nas concentrações variando de (0,2 a 1,0) x 10⁻⁵ mol.L⁻¹. Adicionou-se 0,1 mL da solução metanólica de DPPH (0,1 mol.L⁻¹) a cada 2,9 mL da solução do antioxidante. Após a adição do DPPH, o sistema foi agitado e permaneceu por 60 minutos em ambiente escuro. Em seguida, procedeu-se a leitura da absorbância em 515 nm no espectrofotômetro UV-vis Shimadzu, modelo UV-2550. Essas análises foram realizadas em triplicata para cada antioxidante. Para controle negativo foi usado 2,9 mL de metanol e 0,1 mL da solução de DPPH. Como branco foi utilizado 3,0 mL da solução do antioxidante nas suas respectivas concentrações.

A capacidade de um composto eliminar o radical DPPH (% de atividade do antioxidante, AA) foi calculada utilizando-se a equação 7 (30; 47).

$$\% AA = \frac{A_c - (A_a - A_b)}{A_c} \times 100 \quad \text{Eq. 7}$$

Onde:

A_a = absorbância da solução de antioxidante

A_b = absorbância do branco

A_c = absorbância do controle negativo

A partir dos gráficos gerados da %AA em função da concentração (mol.L^{-1}) foi calculado o EC_{50} (o valor necessário para reduzir 50 % da concentração do radical DPPH). Nas equações da reta o y foi substituindo por 50 (cinquenta) para calcular o valor de x (resposta), isto é, EC_{50} (47).

A metodologia descrita anteriormente também foi utilizada para avaliar a atividade antirradicalar das misturas binárias de antioxidantes. As misturas DAB/DAT, DAB/DIF e DAB/BHA foram preparadas na concentração de $0,005 \text{ mol.L}^{-1}$ e diluídas para concentrações variando de $(0,2 \text{ a } 1,0) \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$. As proporções dos antioxidantes nas misturas foram 1:1, 1:3 e 3:1.

4.2.2. Método do sistema β -caroteno/ácido linoleico

A atividade antioxidante de DAT e DAB e suas misturas foram avaliadas no sistema β -caroteno/ácido linoleico de acordo o método da norma ISSN 1679-6535 (48), com adaptações. As leituras de absorbância foram realizadas no espectrofotômetro UV-vis Shimadzu, modelo UV-2550, utilizando o software UV-Prove no método fotométrico, selecionando o comprimento de onda de 470 nm.

4.2.2.1. *Preparo da solução sistema*

Para a realização do ensaio primeiramente foi preparada uma solução constituindo de 50 μL de solução clorofórmica de β -caroteno (20 mg.mL^{-1}), 40 μL de ácido linoleico e 540 μL de Tween 40 e 1,0 mL de CHCl_3 . Em seguida, o clorofórmio foi evaporado da solução e 60 mL de água destilada oxigenada foram adicionadas para obter a solução sistema (emulsão aquosa). Diluições com água da solução sistema foram realizadas até obter valores de absorbância no intervalo de 0,6 a 0,7.

4.2.2.2. *Preparo das amostras de antioxidantes*

Soluções metanólicas de DAT e DAB foram preparadas nas concentrações $1,25 \text{ mmol.L}^{-1}$; $2,50 \text{ mmol.L}^{-1}$ e $3,75 \text{ mmol.L}^{-1}$ a partir da solução estoque $5,0 \text{ mmol.L}^{-1}$. As misturas DAB/DAT nas proporções 1:1, 1:3 e 3:1 e a solução de Trolox foram preparadas na concentração de $5,0 \text{ mmol.L}^{-1}$.

4.2.2.3. Determinação da inibição da oxidação do β -caroteno

Em um tubo de ensaio foi colocado 0,4 mL da solução de antioxidante (aminas, misturas e Trolox) e 5,0 mL da solução sistema β -caroteno/ácido linoleico. A solução resultante foi mantida sob agitação em banho termostático a temperatura de 40 °C. As leituras de absorbância das soluções foram realizadas após decorridos 2 minutos (Aa_{2min}) e 120 minutos (Aa_{120min}). Essas análises foram realizadas em triplicata para cada antioxidante. Para controle negativo foi realizado leituras de absorbância da solução sistema nas mesmas condições de tempo e temperatura.

A porcentagem de inibição da oxidação do β -caroteno foi calculada a partir da equação 8 (30; 49).

$$\% \text{ Inibição} = \left(1 - \frac{(Aa_{2min} - Aa_{120min})}{(Ac_{2min} - Ac_{120min})} \right) \times 100 \quad \text{Eq. 8}$$

Onde:

Aa_{2min} = absorbância da solução contendo o antioxidante em t = 2 minutos

Aa_{120min} = absorbância da solução contendo o antioxidante em t = 120 minutos

Ac_{2min} = absorbância da solução controle (solução sistema) em t = 2 minutos

Ac_{120min} = absorbância da solução controle (solução sistema) t = 120 minutos

4.3. Síntese do biodiesel

Os biodieseis foram obtidos através da reação de transesterificação básica do óleo de soja ou do óleo de algodão e metanol de acordo com a metodologia de Kulkarni *et al.* (50), com modificações. Para ambos os óleos, a proporção utilizada de metanol/óleo foi na razão 6:1 e a quantidade de catalisador básico (KOH) de 1% da massa dos óleos.

Primeiramente foi obtida uma solução homogênea de metóxido de potássio, produzido da reação entre o KOH e o metanol. Essa solução foi adicionada ao óleo e a mistura reacional foi mantida sob agitação na temperatura de 25 °C por 2 horas. Os produtos foram transferidos para o funil de decantação coberto com papel alumínio, a fim de minimizar oxidação pela luz. A fase mais densa (glicerina) foi removida e posteriormente o biodiesel foi purificado através de lavagens com água destilada fervida, seco a vácuo e armazenado sob refrigeração em atmosfera de nitrogênio.

4.4. Características físico-químicas do biodiesel

4.4.1. Índice de acidez

O monitoramento da acidez foi realizado pelo método potenciométrico ASTM D664/2011 (51) que se baseia na titulação em sistema não aquoso (biodiesel solubilizado em isopropanol). A solução titulante é KOH em isopropanol e fenolftaleína como indicador. Neste ensaio foi usado um titulador potenciométrico da marca Metron.

4.4.2. Viscosidade cinemática

A viscosidade cinemática dos biodieseis foi efetuada pelo método NBR 10441 da ABNT (52) utilizando um viscosímetro cinemático manual (modelo ME18V da Julabo). No procedimento realiza-se a medição do tempo requerido para que um volume de 10 mL do biodiesel escoe, sob gravidade, através de uma região do tubo viscosímetro.

Durante a determinação o tubo de especificação W0927 permanece imerso em um banho viscosímetro a 40°C. A partir da constante K do tubo e do tempo medido experimentalmente, a viscosidade cinemática pode ser calculada a partir da Equação 9.

$$v = K \times t \quad \text{Eq. 9}$$

Onde: v = viscosidade cinemática (mm^2s^{-1}); K= constante capilar do viscosímetro ($0,007931 \text{ mm}^2/\text{s}^2$); t= tempo (s).

4.4.3. Ponto de fulgor

A análise de ponto de fulgor foi realizada seguindo o método NBR 14598 da ABNT, utilizando o equipamento HFP 380, Pensky Martens.

4.4.4. Massa específica/densidade

A determinação da massa específica do biodiesel foi realizada no densímetro digital (KEM DA645), de acordo com o método ABNT NBR 14065/2006.

4.4.5. Ponto de névoa

O teste foi realizado feito segundo a norma ASTM D 2500 no equipamento marca TANAKA e modelo MPC – 102 L.

4.4.6. Ponto de fluidez

De acordo com a norma ASTM D 97 determinou-se o ponto de fluidez da amostra de biodiesel no equipamento marca TANAKA, modelo MPC – 102 L.

4.4.7. Ponto de entupimento de filtro a frio

O teste foi realizado de acordo com método ABNT NBR14747 e o equipamento utilizado para tal determinação foi da marca TANAKA Scientific Limited, modelo AFP-102.

4.4.8. Teor de água

A determinação do teor de água foi realizada em titulador coulométrico Karl Fischer (modelo MKC-501 da Kyoto), de acordo com o método ASTM D 6304.

4.5. Avaliação da estabilidade oxidativa do biodiesel

4.5.1. Método EN 14112 - Rancimat

Os ensaios de estabilidade oxidativa foram realizados em duplicata no equipamento 873 Biodiesel Rancimat da marca Metrohm de acordo com o método EN 14112 (2). Neste método, 3 g da amostra são envelhecidas a 110 °C, sob fluxo constante de ar (10 L.h⁻¹). O rápido aumento da taxa de oxidação é observado pelo aumento de condutividade na água deionizada, ocasionado pela formação de peróxido e de compostos voláteis. O resultado é determinado a partir do ponto de inflexão da curva, expresso como período de indução (PI).

4.5.2. PetroOXY

As análises foram realizadas de acordo com a norma ASTM D7545-2009 no equipamento Petrotest 413– modelo PetroOxy, e amostras de 5,0 mL foram pressurizadas em atmosfera de oxigênio com pressão inicial de 700 kPa e temperatura de 110 °C. O tempo entre

a estabilização da pressão inicial e o decaimento de 10% da mesma, é o valor de PI determinado pelo método PetroOxy (53).

4.5.3. Calorimetria Diferencial de Varredura Pressurizada (P-DSC)

As análises de P-DSC foram determinadas segundo a metodologia (54) com adaptações, na condição isotérmica. As curvas P-DSC foram obtidas utilizando um calorímetro diferencial de varredura acoplado a uma célula de pressão, da TA Instruments DSC 2920. Foram usadas condições de análises temperatura de 110 °C, utilizando cadinho de alumínio, com cerca de 10 mg da amostra, sob atmosfera de oxigênio e pressão de 101,5 psi (equivalente a 700 kPa), com razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹, no intervalo de temperatura de 50 a 110°C.

Os valores do HPOIT foram determinados pela diferença do tempo *onset* e o tempo inicial (tempo em que a amostra atingiu a temperatura isoterma).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

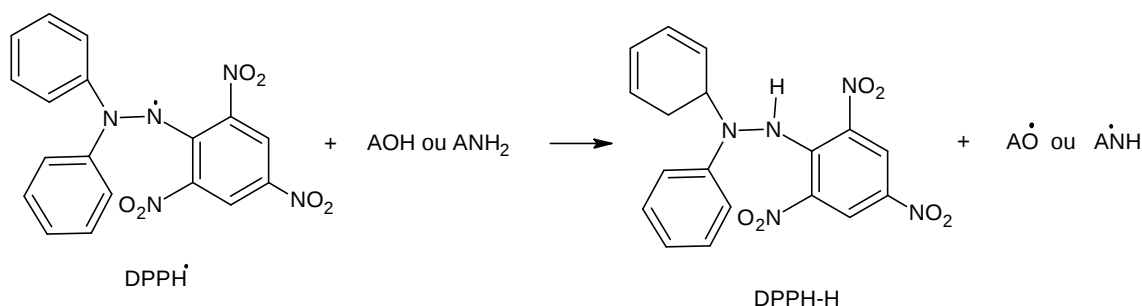
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Métodos de atividade antioxidante

5.1.1. Método do sequestro do radical DPPH

Neste ensaio a mudança na intensidade da coloração violeta da solução de radical DPPH após reação com um composto indica que houve redução do radical, portanto, o composto possui propriedades antioxidantes. A Figura 8 mostra uma reação de oxirredução entre o radical DPPH e um antioxidante fenólico (AOH) ou aminado (ANH₂).

Figura 8 - Esquema reacional entre o radical DPPH e um composto antioxidante.



Fonte: Adaptado de (55). AOH representa um composto fenólico e ANH₂ uma amina aromática.

A quantidade mínima necessária do antioxidante que leva a uma redução de 50% da concentração inicial do radical DPPH é expressa pelo parâmetro EC₅₀. Neste trabalho foi adotado o termo 1/EC₅₀ que representa a atividade antirradicalar do antioxidante. Um maior valor de 1/EC₅₀ demonstra uma capacidade sequestradora mais forte em condições idênticas.

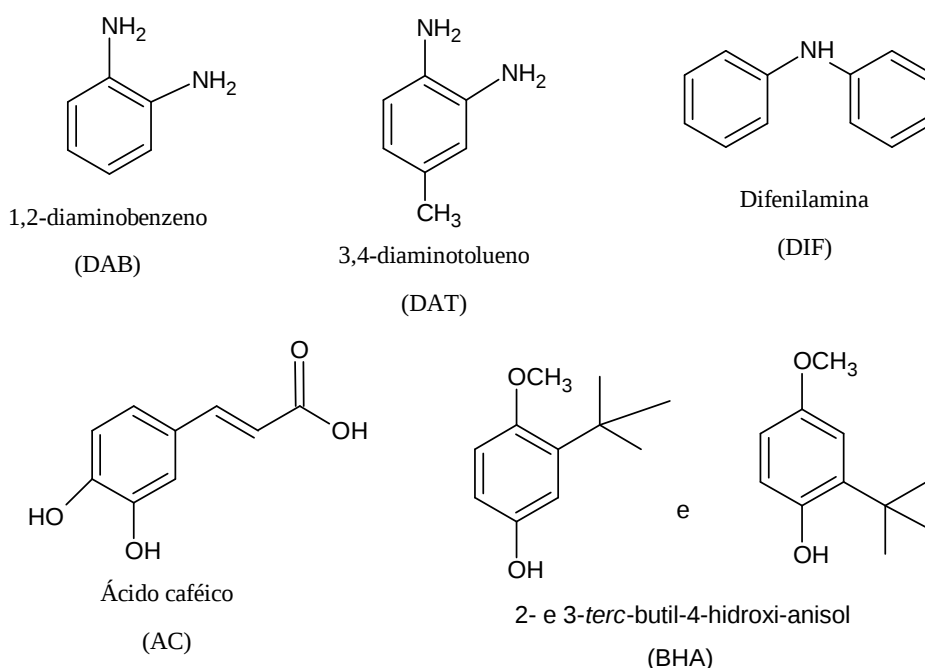
Os resultados da atividade antirradicalar das aminas aromáticas (1,2-dimetilbenzeno, 3,4-diaminotolueno e difenilamina) e dos compostos fenólicos (ácido cafeico e 2- e 3-terc-butil-4-hidroianisol), avaliada pelo sistema do sequestro do radical livre DPPH, são mostrados na Tabela 3. Os valores de 1/EC₅₀ indicam que entre os compostos aminados o 1,2-diaminobenzeno (DAB) foi o melhor antioxidante, entretanto, a atividade antirradicalar foi 74% inferior a do ácido cafeico (AC). Os demais compostos também foram ativos como sequestrador do radical DPPH, porém em uma menor extensão que DAB e AC. A discussão sobre a eficiência dos antioxidantes foi baseada em suas estruturas químicas, as quais são mostradas na Figura 9.

Tabela 3 - Atividade antirradicalar dos antioxidantes pelo método DPPH.

Compostos	1/EC ₅₀ (mol/L)
1,2- diaminobenzeno (DAB)	2,31 x 10 ⁵ ± 0,02
3,4-diaminotolueno (DAT)	0,26 x 10 ⁵ ± 0,01
difenilamina (DIF)	2,22 x 10 ³ ± 0,02
ácido cafeico (AC)	1,58 x 10 ⁶ ± 0,01
hidroxibutilanisol (BHA)	7,94 x 10 ⁴ ± 0,03

Nas estruturas dos compostos DAB e DAT estão presentes dois grupos amina, enquanto que a difenilamina (DIF) possui um grupo amino. Nos compostos fenólicos o AC com dois grupos hidroxila e o BHA com um grupo. Como mencionado na revisão de literatura, a presença de um segundo grupo amino ou hidroxila na posição *orto* ou *para* átomos de hidrogênio facilita a liberação do átomo da ligação N–H ou O–H por formar compostos estáveis (28).

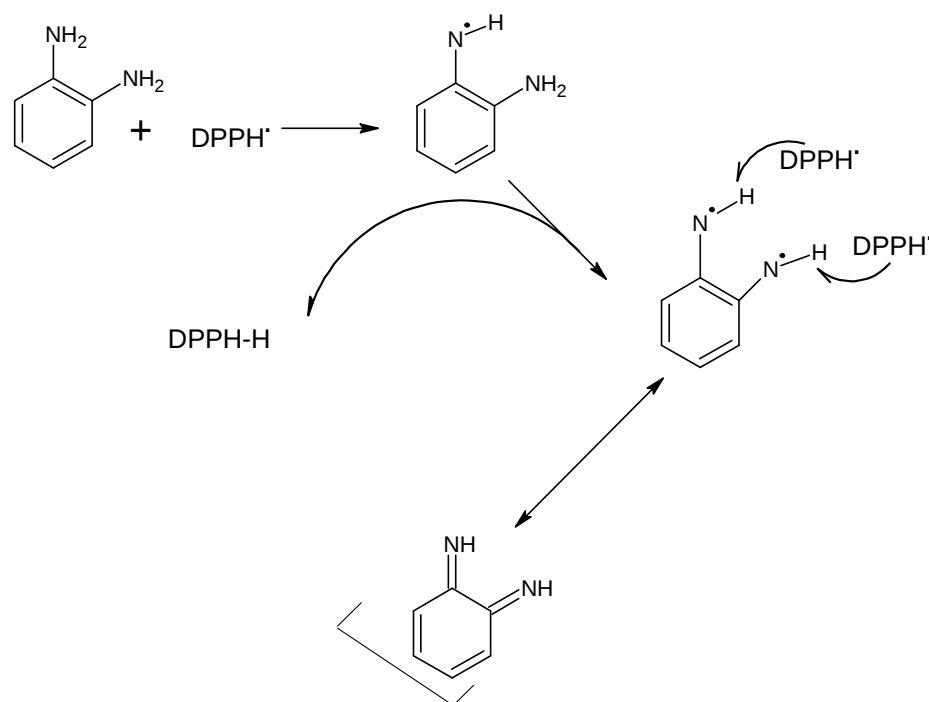
Figura 9 - Estruturas químicas das aminas aromáticas e dos compostos fenólicos.



Na Figura 10 está proposto o mecanismo que representa a reação de 1,2-diaminobenzeno e o radical DPPH. Um mecanismo similar deve ocorrer para o 3,4-diaminotolueno. Nesta proposta, os quatro átomos de hidrogênios dos grupos amino são doados para o radical DPPH e forma uma *orto* di-imina, uma molécula estável. O processo

desta conversão contribui para a potencial atividade antioxidante como sequestrador de radical DPPH.

Figura 10 - Mecanismo proposto da estabilização da amina DAB na presença do radical DPPH.

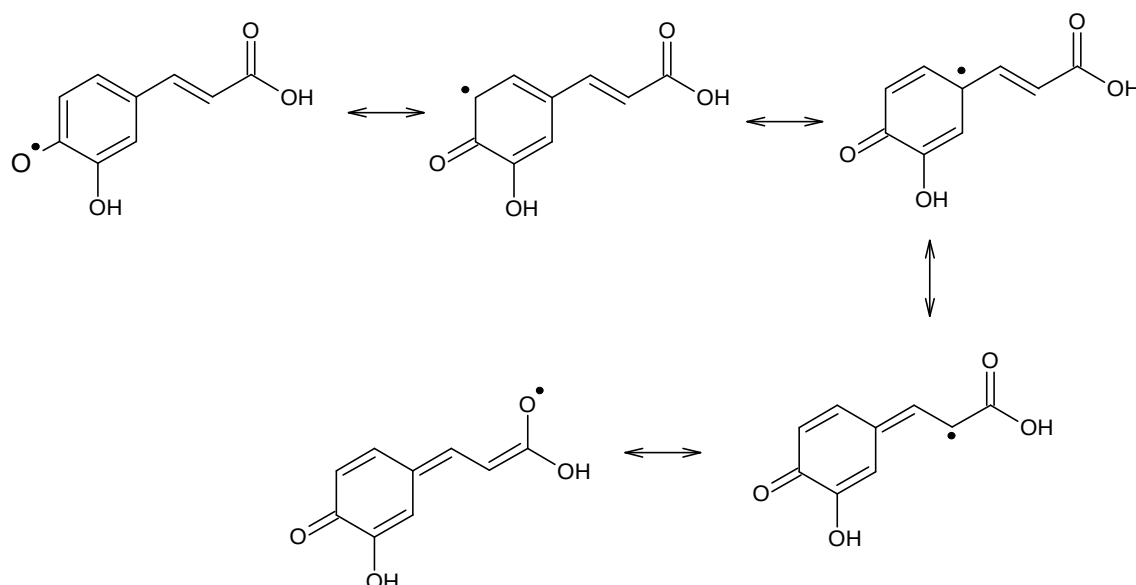


Fonte: Adaptado de (23).

O composto difenilamina apresentou menor atividade antirradicalar que as outras aminas aromáticas. Uma possível explicação para esse fato pode estar relacionado ao efeito estérico causado pelos grupos fenila. A aproximação do radical DPPH no centro reacional fica mais restrita, e desta forma inibe a transferência do átomo da ligação N–H para o DPPH.

A maior eficiência do AC sobre a DAT e DAB indica que a quantidade de hidrogênio disponível para reagir com radical DPPH não foi o fator determinante. Uma provável explicação seria a maior dispersão do elétron desemparelhado no radical oriundo do AC do que no radical das aminas, tornando-o mais estável. A Figura 11 mostra as estruturas de ressonância em que é possível visualizar o elétron desemparelhado disperso através da ligação do anel aromático e da ligação dupla cadeia lateral do radical até o grupo carboxílico.

Figura 11 - Estruturas de ressonância propostas para a dispersão do elétron do radical ácido cafeico.



As misturas binárias de antioxidantes foram usadas no sequestro do radical DPPH com o objetivo de verificar um efeito sinérgico, isto é, o efeito observado das combinações é maior do que a soma dos efeitos de cada antioxidante presente na mistura. Para esse fim foi investigado as combinações entre DAB e os compostos DAT, DIF e BHA. A atividade antirradicalar de cada mistura foi avaliada em três proporções pelo valor de $1/EC_{50}$, Tabela 4.

Tabela 4 - Atividade antirradicalar das misturas dos antioxidantes pelo método DPPH

Misturas	Proporção	$1/EC_{50}$ (mol/L)
DAB/DIF	(1:1)	$1,4 \times 10^5 \pm 0,1$
DAB/DIF	(3:1)	$1,6 \times 10^5 \pm 0,1$
DAB/DIF	(1:3)	$4,7 \times 10^3 \pm 0,2$
DAB/DAT	(1:1)	$1,0 \times 10^3 \pm 0,1$
DAB/DAT	(3:1)	$3,3 \times 10^5 \pm 0,1$
DAB/DAT	(1:3)	$1,1 \times 10^5 \pm 0,3$
DAB/BHA	(1:1)	$2,8 \times 10^4 \pm 0,1$
DAB/BHA	(3:1)	$2,4 \times 10^5 \pm 0,2$
DAB/BHA	(1:3)	$1,7 \times 10^5 \pm 0,2$

Os valores de $1/EC_{50}$ mostraram que as misturas na proporção 3:1 resultaram em uma melhor atividade antirradicalar do que as demais. Nesta composição a maior concentração de DAB ratifica a melhor eficiência deste antioxidante frente ao sequestro do radical DPPH do que DIF, DAT e BHA. Assim como verificado no ensaio usando apenas um antioxidante, a

amina DAT apresentou melhor eficiência do que os antioxidantes DIF e BHA. Fato esse constatado pelos valores de $1/EC_{50}$ das misturas 1:3, onde tanto DIF, BHA e DAT estão em maior proporção que DAB. Novamente pode ser observado que a quantidade de átomos de hidrogênios disponíveis para reagir como o radical DPPH melhora a eficiência do antioxidante. Também foi observado que DIF é o antioxidante menos eficiente, em razão que o aumento deste composto na mistura binária resultou em um decréscimo na atividade antirradicalar acima de 90% comparada com a mistura na proporção 1:1. Ao contrário de DAT e BHA que ocasionaram um acréscimo de 98% e 72%, respectivamente.

Para avaliar se as misturas binárias dos antioxidantes apresentaram efeito sinérgico, aditivo ou antagonístico foi utilizada a equação 10. Um efeito sinérgico é obtido quando o valor de EM (efeito da mistura) for superior a 1, enquanto uma razão menor que 1 significa efeito antagonístico e igual a 1 um efeito aditivo (56; 57).

$$EM = \frac{\%AA_{515}^{(MB)}}{(\%AA_{515}^{A1} + \%AA_{515}^{A2})} \quad \text{Eq. 10}$$

Onde:

EM = efeito da mistura

$\%AA_{515}^{A1}$ = atividade antioxidante de DAB determinada em 515 nm.

$\%AA_{515}^{A2}$ = atividade antioxidante de DIF ou DAT ou BHA determinada em 515 nm.

$\%AA_{515}^{(MB)}$ = atividade antioxidante da mistura binária determinada em 515 nm.

Os valores observados para o efeito da mistura (EM) e da atividade antioxidante (AA) usada para o cálculo de EM são mostrados na Tabela 5. Cabe ressaltar que os valores da atividade antioxidante de DAB, DAT, DIF e BHA puros e das misturas foram obtidos a partir da Equação 7.

Tabela 5 - Valores de atividade antioxidante (AA) e efeito da mistura obtidos no ensaio DPPH.

Mistura	%AA	%AA da MB	EM
---------	-----	-----------	----

	(A1+A2)	1:1	1:3	3:1	1:1	1:3	3:1
DAB/DAT	36,7	46,4	25,3	45,6	1,3	0,7	1,2
DAB/DIF	14,6	2,01	12,3	16,3	0,1	0,8	1,1
DAB/BHA	21,6	34,1	52,2	31,2	1,6	2,4	1,4

AA é atividade antioxidante do componente isolado ou da mistura;

A1 representa o antioxidante DAB e A2 os demais compostos usados na mistura binária.

Como pode ser observado através dos valores de EM, algumas misturas apresentaram efeito sinérgico, diferindo de acordo com a proporção dos constituintes da mistura. O efeito sinérgico mais elevado foi observado na mistura DAB/BHA na proporção 1:3. De acordo com a literatura (57) esse efeito é observado quando o antioxidante menos eficiente regenera o mais eficiente, neste caso, o BHA em maior proporção nesta mistura foi o antioxidante que apresentou menor atividade antirradicalar comparado a do composto DAB. A diminuição do valor de EM nas demais proporções evidencia a importância do BHA na estabilização do radical DPPH e formação do radical antioxidante mais estável $ANH^{\bullet}$. A Figura 12 mostra uma proposta do possível mecanismo de ação sinérgica entre os antioxidantes envolvidos.

Para a mistura binária DAB/DIF na proporção 3:1 foi verificado um efeito sinérgico menor que o observado para DAB/BHA. Em relação às misturas DAB/DAT foi observado efeito sinérgico nas proporções 1:1 e 3:1 sugerindo que DAT é o menos eficiente e regenera DAB, o mais eficaz, potencializando o efeito dos antioxidantes na mistura. Entretanto, quando presente em maior concentração que DAB, ocorreu efeito antagônico.

O efeito antagônico é observado quando o antioxidante mais eficiente regenera o menos eficiente. Além da mistura DAB/DAT na proporção 1:3, o efeito antagônico foi observado para a mistura DAB/DIF na proporção 1:1 e 1:3. O antioxidante DAB pode ter regenerado o radical $A_2NH^{\bullet}$ menos estável que foi formado da reação entre DIF e o radical DPPH e desta forma sua eficiência é diminuída devido à formação do radical $A_1NH^{\bullet}$ mais estável, proveniente da amina DAB. A Figura 13 mostra uma proposta das possíveis reações envolvendo os radicais dos antioxidantes no ensaio DPPH.

Figura 12- Representação da possível ação sinérgica entre DAB e BHA.

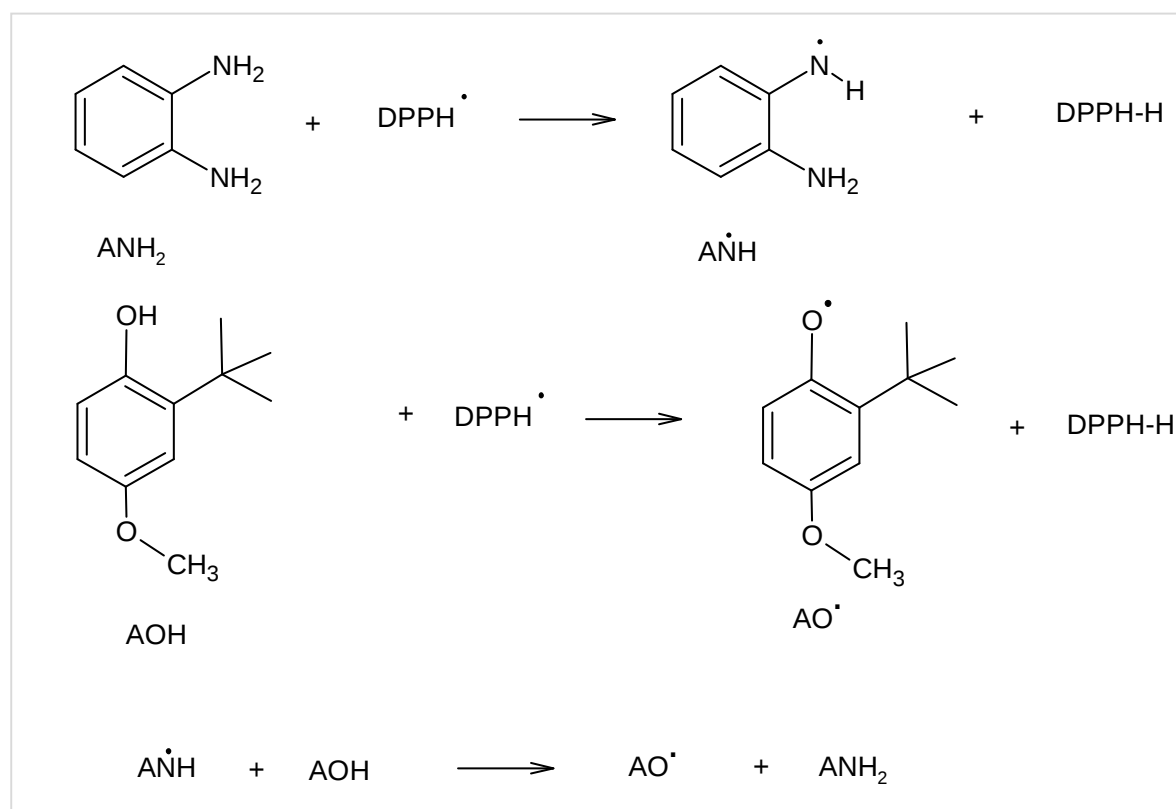
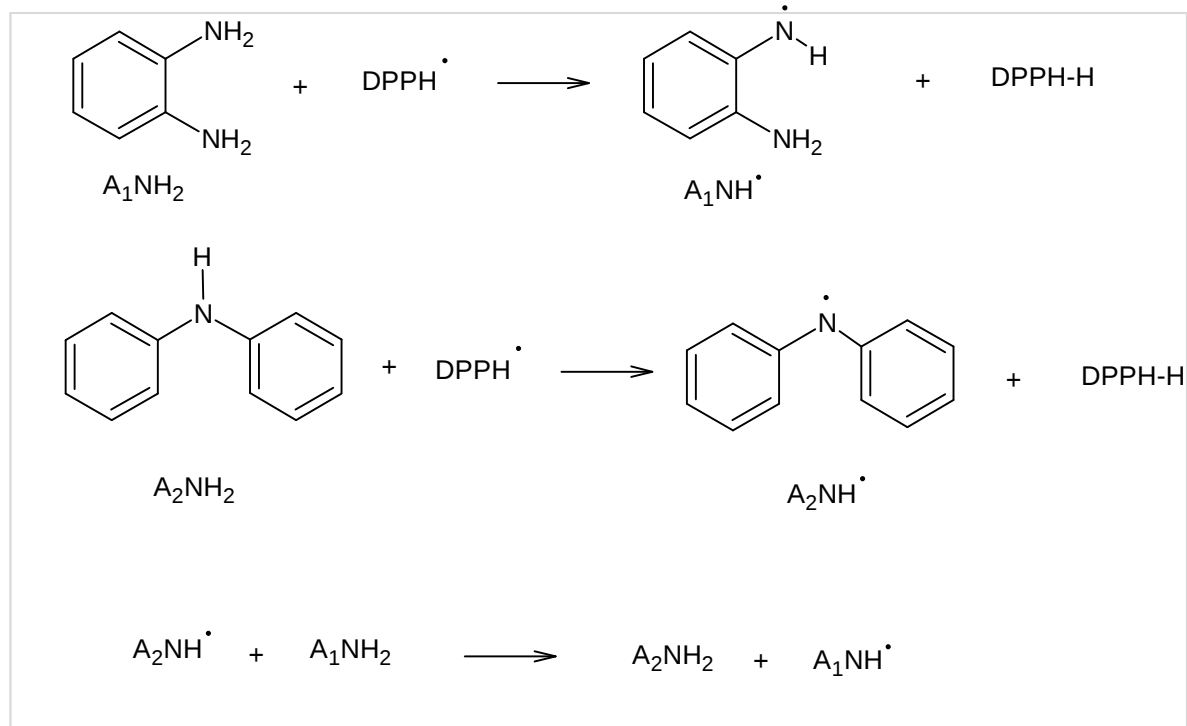


Figura 13 - Possíveis reações mostrando a regeneração do radical A₁NH produzido no ensaio DPPH.



5.2. Método do sistema β -caroteno/ácido linoleico

Dentre as aminas analisadas para verificar as propriedades antioxidantes, DAT e DAB foram as que mostraram maior atividade antirradicalar no método do radical DPPH. Sendo assim, as mesmas foram testadas no sistema β -caroteno/ácido linoleico buscando comparar os métodos de atividade antioxidante. A Tabela 6 mostra os resultados obtidos das absorbâncias de cada amostra e as porcentagens de inibição da oxidação do β -caroteno, as quais foram obtidas a partir da Equação 8.

Tabela 6 – Dados obtidos no ensaio β -caroteno/ácido linoleico.

Amostras	Absorbância Inicial	Absorbância Final	Redução da Abs.	% de inibição
DAT	0,424	0,202	0,222	7,2
DAB	0,399	0,197	0,202	15,6
DAB/DAT 1:1	0,401	0,207	0,194	19,1
DAB/DAT 1:3	0,396	0,208	0,118	21,5
DAB/DAT 3:1	0,384	0,216	0,168	29,7
Sistema	0,497	0,258	0,239	0,0
Trolox	0,384	0,271	0,113	52,8

Os resultados mostraram que a adição dos antioxidantes no sistema β -caroteno/ácido linoleico inibiram menos a oxidação do β -caroteno que o controle positivo (trolox). Assim como no ensaio do DPPH, a amina DAB foi mais eficiente que DAT. Com relação às misturas, estas também apresentaram a mesma ordem de eficiência DAB/DAT (3:1) > DAB/DAT (1:3) > DAB/DAT (1:1). Nesse ensaio os radicais provenientes da oxidação do ácido linoleico reagem com o antioxidante e desta forma evitam a oxidação do β -caroteno. Acredita-se que a baixa eficiência dos compostos avaliados seja decorrente da presença de quantidades substanciais de peróxidos, o que pode resultar na perda da atividade antioxidante (58).

5.3. Avaliação da estabilidade oxidativa do biodiesel por técnicas aceleradas

A estabilidade oxidativa do biodiesel metílico de soja (BMS) e biodiesel metílico de algodão (BMA) com e sem antioxidantes foi avaliada usando as técnicas aceleradas de oxidação: Rancimat e P-DSC. Antes da avaliação da estabilidade oxidativa foram determinadas algumas propriedades físico-químicas para estes biodieseis, Tabela 7.

As propriedades tais como acidez e teor de água podem interferir no processo de degradação oxidativa, pois o aumento deste índice está relacionado ao aumento dos produtos secundários da oxidação, como os produtos voláteis aldeídos, cetonas e ácidos carboxílicos de cadeias curtas. As características físico-químicas do BMS e BMA analisados indicam que os mesmos estavam de acordo com as especificações exigidas pela ANP (1).

Tabela 7 - Parâmetros físico-químicos para os biodieseis metílicos de soja e algodão.

Propriedades	BMS	BAM	Limite	Método
Aspecto e cor	Límpido	Límpido	Límpido	-
Índice de acidez (mg KOH.g)	0,1	0,4	0,5	ASTM D664/2011
Teor de água (mg.kg ⁻¹)	300,0	400,0	200 *	ASTM D 6304
Ponto de névoa** (°C)	6,0	-3	Anotar	ASTM D2500/2011
Ponto de entupimento de filtro a frio (°C)	0,0	2,5	19	NBR 14747/2008
Ponto de fluidez** (°C)	0,0	-1	Anotar	ASTM D2500/2011
Ponto de fulgor (°C)	170	170	100	NBR 14598/2007
Massa específica a 20 °C (kg.cm ⁻³)	886,3	882,9	850-900	NBR 14065/2006
Viscosidade cinemática (mm ² .s ⁻¹)	4,4	4,6	3,0 – 6,0	NBR 10441/2007

*Valor adotado a partir de Janeiro de 2014 pela ANP. **Não contemplado nas especificações da ANP.

5.3.1. Biodiesel de soja aditivado com antioxidantes nitrogenados e compostos fenólicos

5.3.1.1. Método Rancimat – EM 14112

A Tabela 8 mostra os valores de período de indução obtidos pelo método acelerado Rancimat para as amostras de biodiesel de soja metílico (BMS) com e sem antioxidantes. Na análise da estabilidade oxidativa usando este método foi observado um período de indução (PI) abaixo de 6 horas para o BMS sem aditivo, valor mínimo exigido pela ANP (1).

Tabela 8 - Valores de período de indução para as amostras de BMS com e sem aditivo antioxidante.

Amostra	PI (h) sem antioxidante	PI (h) dos antioxidantes em diferentes concentrações (mmol.kg ⁻¹)			
		1,25	2,50	3,75	5,00
BMS	4,68 ± 0,58				
BMS/DAB		6,59 ± 0,03	6,85 ± 0,03	6,93 ± 0,04	7,50 ± 0,04
BMS/DAT		6,70 ± 0,01	7,30 ± 0,00	7,35 ± 0,05	8,13 ± 0,10
BMS/DIF		4,80 ± 0,08	4,74 ± 0,05	4,73 ± 0,06	4,90 ± 0,42
BMS/BHA		5,54 ± 0,04	6,12 ± 0,07	6,5 ± 0,05	7,42 ± 0,35
BMS/AC		7,46 ± 1,07	8,28 ± 0,01	8,7 ± 0,05	9,31 ± 0,14
BMS/BHT		5,70 ± 0,07	6,11 ± 0,08	7,02 ± 0,06	8,72 ± 0,17
BMS/TBHQ		5,64 ± 0,09	6,76 ± 0,06	8,8 ± 0,04	11,12 ± 0,22

As amostras de BMS aditivadas com as aminas DAB e DAT na menor concentração (1,25 mmol.kg⁻¹) apresentaram um valor de PI acima do exigido pela ANP. Esses valores foram superiores aos encontrados para as amostras aditivadas com os demais antioxidantes, com exceção do AC. Estas aminas tiveram um fator de proteção de aproximadamente 40% na menor concentração e podem ser consideradas uma alternativa aos antioxidantes fenólicos para aplicação no biodiesel.

Nas concentrações $\geq 2,5$ mmol.kg⁻¹ todos os antioxidantes, com exceção do DIF, elevaram o período de indução acima de 6 h. Considerando o aspecto econômico, o uso de uma menor concentração é o mais indicado.

Quando a maior concentração foi considerada para avaliar a eficiência dos antioxidantes, TBHQ foi o que apresentou o maior fator de proteção (137%). A alta eficiência do TBHQ no controle da estabilidade oxidativa do biodiesel provavelmente está associada aos

grupos hidroxilas ligados nas posições 1,4 do anel benzênico e do grupo *terc*-butila na posição 2. A remoção dos dois hidrogênios destas hidroxilas por espécies reativas de oxigênio (EROs), por exemplo ROO•, produtos da oxidação primária, forma um radical TBHQ estável por ressonância e também pelo efeito indutivo doador de elétrons do grupo *terc*-butila. Assim o TBHQ previne a oxidação dos ésteres insaturados, aumentando o período de indução do biodiesel. Segundo Karavalakis (26) o TBHQ, comparado aos compostos BHA e BHT, tem maior quantidade de sítios para a formação de complexos entre os radicais livres e o radical do antioxidante para a estabilização da cadeia alquílica do éster.

O BHT protegeu o BMS por um fator de 86%, uma menor eficiência comparada ao TBHQ. Estruturalmente possui um grupo hidroxila a menos que o TBHQ, mas um grupo *terc*-butila a mais. O grupo *terc*-butila apesar de estabilizar o radical pelo efeito indutivo doador de elétrons deve contribuir em uma extensão menor quando comparado com a presença de um segundo grupo de hidroxila.

O antioxidante DAT teve um fator de proteção de 73% em relação ao biodiesel puro. A presença de grupos aminos ligados ao anel benzênico proporcionou um aumento da estabilidade oxidativa do biodiesel de soja, uma vez que possui quatro hidrogênios disponíveis para serem removidos pelos EROs. O antioxidante DAB, apesar de estruturalmente semelhante à DAT teve menor eficiência (60% de proteção).

O antioxidante monofenólico BHA protegeu 58% em relação ao biodiesel puro. A menor eficiência quando comparada ao BHT, também monofenólico, pode ser correlacionada ao fato do BHA ser uma mistura de isômeros, sendo que uma maior atividade antioxidante pode ser atribuída ao isômero 3-*terc*-butil-4-hidroxianisol devido o grupo *terc*-butila na posição 3 estabilizar mais eficientemente o radical formado quando este doa um átomo de hidrogênio, portanto, susceptível de verificar um efeito antagonístico entre os isômeros. Outra possibilidade para o BHA ter um menor fator de proteção em relação ao BHT é a baixa estabilidade térmica do mesmo (26).

No controle da estabilidade oxidativa do biodiesel de soja a difenilamina apresentou a menor proteção (5%) em relação ao biodiesel sem antioxidante, logo, um aumento que não foi suficiente para elevar o PI acima de 6h. Este resultado corrobora com os dados obtidos no método DPPH, onde a DIF mostrou menor eficiência antirradicalar.

5.3.1.2. Análise por P-DSC

O acompanhamento da eficiência dos antioxidantes nas amostras de biodiesel de soja também foi realizado através das curvas isotérmicas obtidas na técnica P-DSC. A Tabela 9 mostra os valores de tempo de indução oxidativa a alta pressão obtidos (HPOIT) pelas curvas de PDSC isotérmicas.

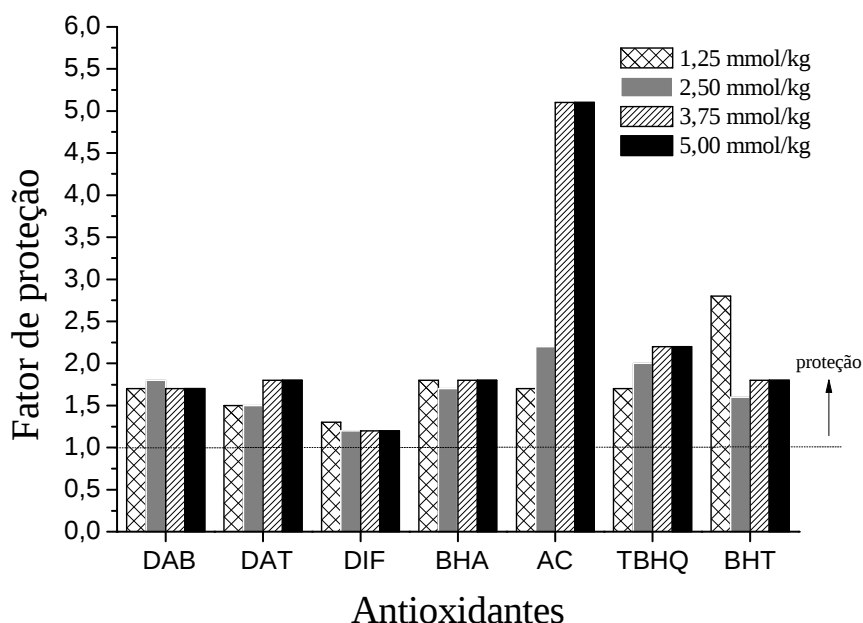
Tabela 9 – Valores de HPOIT das amostras de biodiesel de soja determinado por P-DSC.

AMOSTRA	HPOIT (min)				
	Sem antioxidante	Concentração mmol.kg ⁻¹ dos antioxidantes			
		1,25	2,50	3,75	5,00
BMS	97,04				
BMS/DAB		163,53	169,33	170,42	161,89
BMS/DAT		131,35	141,82	147,87	176,39
BMS/DIF		143,15	126,34	117,67	114,81
BMS/BHA		113,03	179,01	164,05	172,18
BMS/AC		181,83	184,40	214,91	497,70
BMS/TBHQ		163,43	167,42	197,40	212,46
BMS/BHT		139,37	176,65	152,52	173,05

A ordem de eficiência dos antioxidantes na menor concentração (1,25 mmol.kg⁻¹) (AC>TBHQ~DAB>DIF>BHT>DAT>BHA) foi diferente da obtida pelo método Rancimat. A eficiência em concentrações baixas torna o antioxidante mais adequado para uso em formulações adotadas para melhorar a estabilidade oxidativa do biodiesel.

Os valores para o fator de proteção ocasionado com adição dos antioxidantes no biodiesel de soja é mostrado na Figura 14. A análise destes resultados mostrou que nas concentrações 2,5 mmol.kg⁻¹ e 5,0 mmol.kg⁻¹ houve uma discrepância maior entre os fatores de proteção entre as amostras aditivadas com AC e as demais. Na concentração de 5,0 mmol.kg⁻¹ o ácido cafeico protegeu 413% em relação ao biodiesel sem antioxidante, seguido por TBHQ (118%) e DAT (82%). A eficiência dos demais antioxidantes nesta concentração foi inferior a 80%. Entretanto foi verificado que na concentração 1,25 mmol.kg⁻¹ o BHT apresentou proteção ao biodiesel de 185%, enquanto BHA mostrou maior eficiência na concentração 2,50 mmol.kg⁻¹, apresentando um fator de proteção de 84%. Para DIF foi verificada a menor eficiência (47% de proteção) no controle da estabilidade oxidativa, corroborando com a técnica Rancimat e DPPH.

Figura 14 – Fator de proteção dos antioxidantes em função da concentração.



5.3.1.3. Estabilidade oxidativa do biodiesel de soja aditivado com misturas binárias

A eficiência das misturas binárias em reduzir o processo de degradação oxidativa do biodiesel metílico de soja foi avaliada através dos valores de HPOIT, obtidos das curvas isotérmicas P-DSC, Tabela 10. A concentração total dos antioxidantes usada no BMS foi de 5,0 mmol.kg⁻¹. Desta forma, a concentração do antioxidante na mistura variou de 1,25 a 3,75 mmol.kg⁻¹, dependendo da proporção adotada.

Tabela 10 – Valores de HPOIT das amostras de BSM aditivados com misturas binárias.

Mistura binária	HPOIT (min)		
	1:1	1:3	3:1
DAB/DAT	176,32	182,45	181,97
DAB/BHA	209,25	221,02	206,82
DAB/DIF	175,31	174,80	142,86
DAB/TBHQ	188,72	189,70	183,06
DAB/BHT	234,61	254,17	205,52

O biodiesel sem antioxidante apresentou um HPOIT de 97 min, esse valor quando comparado aos encontrados para as amostras de BMS aditivadas com as misturas ratifica a eficiência dos antioxidantes testados. O fator de proteção das misturas variou de 40% a 160%. Considerando-se que alguns sistemas não mostraram mudanças significativas nos valores de HPOIT em função da proporção adotada dos antioxidantes, a escolha da mistura binária pode ser feita de acordo com o valor comercial de cada antioxidante. Uma mistura constituída de um antioxidante caro em menor concentração é mais viável economicamente do que uma mistura em que esteja em maior concentração.

O efeito inibitório dos antioxidantes na estabilidade oxidativa do biodiesel usando os valores de HPOIT não pode ser usado em função de não ser observada linearidade dos dados de HPOIT com o aumento da concentração do antioxidante, conforme pode ser visto na Figura 15. Entretanto, os valores de HPOIT das misturas em todas as proporções foram superiores ou similares aos encontrados quando apenas um antioxidante foi usado na concentração $5,0 \text{ mmol.kg}^{-1}$, com exceção do TBHQ, Figura 16, evidenciando assim a cooperação dos dois antioxidantes presentes na mistura.

Figura 15 – Variação dos valores de HPOIT em função da concentração do antioxidante.

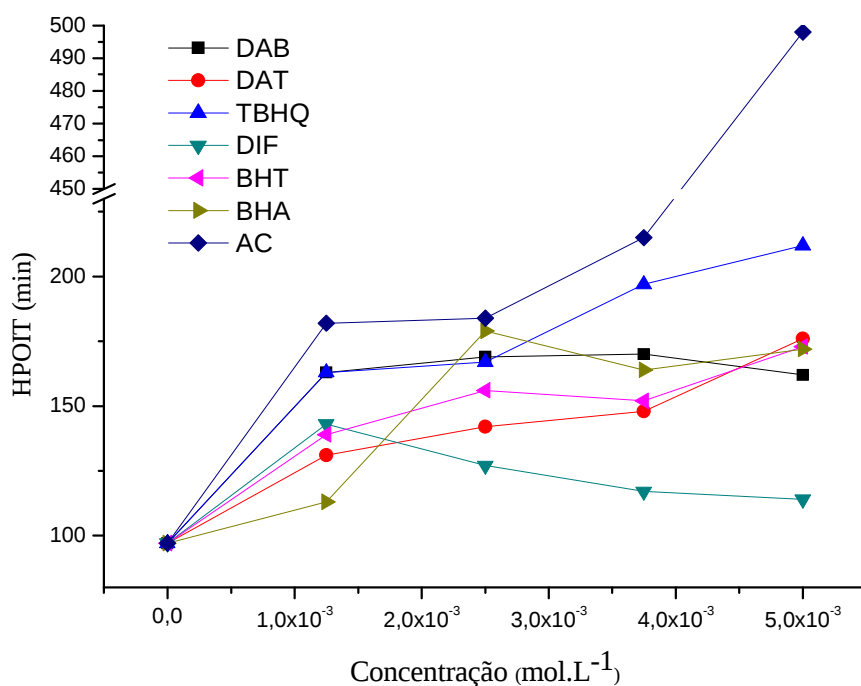
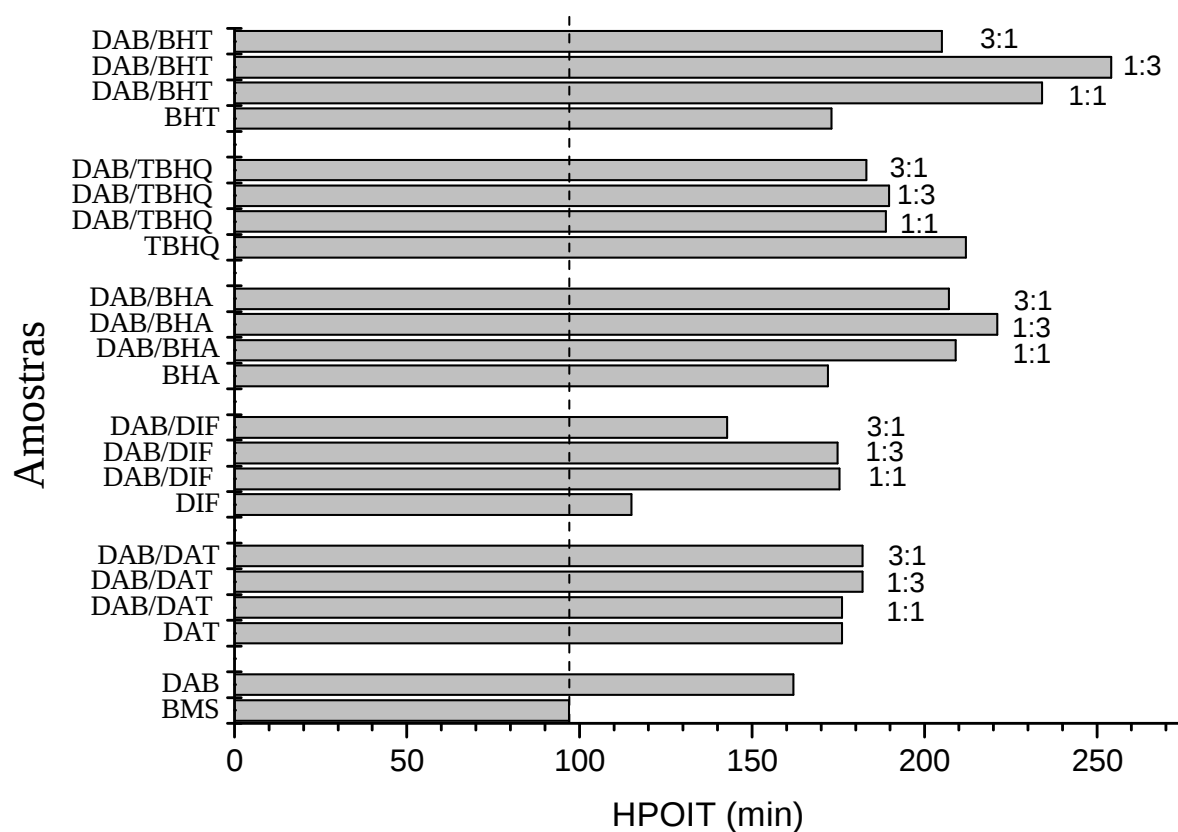


Figura 16 – Valores de HPOIT para as amostras de BMS com e sem antioxidante.



5.3.2. Biodiesel de algodão aditivado com antioxidantes nitrogenados e compostos fenólicos.

A estabilidade à oxidação do biodiesel metílico de algodão (BMA) com e sem antioxidante foi avaliada de acordo com as técnicas P-DSC e PetroOxy.

5.3.2.1. Análise por P-DSC

A Tabela 11 mostra os valores de HPOIT obtidos das curvas de P-DSC isotérmicas realizadas para o BMA com e sem antioxidante. Assim como no biodiesel de soja, as amostras de BMA contendo os antioxidantes na menor concentração mostraram maior estabilidade oxidativa que o biodiesel sem antioxidante.

Tabela 11 – Valores de HPOIT das amostras de BMA aditivadas com antioxidantes fenólicos e aminados.

Amostra	HPOIT (min)				
	sem antioxidante	Concentração mmol.kg ⁻¹ dos antioxidantes			
		1,25	2,50	3,75	5,00
BMA	140,53				
BMA/DAB		173,67	171,69	183,83	177,65
BMA/DAT		159,53	175,57	191,49	187,24
BMA/DIF		146,19	130,71	132,23	143,25
BMA/BHA		164,81	196,81	202,48	229,07
BMA/AC		153,33	194,64	243,13	486,11
BMA/TBHQ		164,18	172,44	198,93	229,19
BMA/BHT		180,56	110,97	250,27	283,94

O aumento provocado nos valores HPOIT das amostras aditivadas com a amina DAB em concentrações crescentes não foi significativo, uma variação em torno de 3%. Em relação à amostra BMA/DAT o aumento da concentração do antioxidante elevou os valores de HPOIT, com exceção da concentração 5,0 mmol.L⁻¹, onde observou um pequeno decréscimo no tempo de oxidação. A maior proteção (36%) para esta amostra foi alcançada com o antioxidante na concentração de 3,75 mmol.L⁻¹. Para a amostra BMA/DIF, em todas as concentrações a proteção da amina não foi significativa. A amostra BMA/BHA apresentou uma linearidade dos valores de HPOIT em relação à variação da concentração, onde a menor concentração apresentou um fator de proteção de 17,3% enquanto que a maior, 63%. A amostra BMA/AC na concentração 5,0 mmol.kg⁻¹ apresentou a melhor eficiência na proteção do biodiesel (246%), corroborando com os resultados obtidos para o biodiesel de soja aditivado com ácido cafeico (BMS/AC). As amostras aditivadas com TBHQ e BHA na concentração 5,0 mmol.kg⁻¹ apresentaram um fator de proteção de aproximadamente 63%, enquanto que as amostras BAM/BHT apresentaram um fator de proteção de 102%.

De acordo com esta técnica, o ácido cafeico foi o que mais protegeu o biodiesel de algodão e ao comparar todos os antioxidantes na concentração 5,0 mmol.kg⁻¹ verificou-se que a ordem de eficiência AC>BHT>TBHQ~BHA>DAT>DAB>DIF.

5.3.2.1.1. Estabilidade oxidativa do BMA aditivado com misturas binárias

A eficiência das misturas binárias em reduzir o processo de degradação oxidativa do biodiesel metílico de algodão foi avaliada através dos valores de HPOIT, obtidos das curvas isotérmicas P-DSC, Tabela 12. A concentração total dos antioxidantes usada no BMA foi de 5,0 mmol.kg⁻¹. Desta forma, a concentração do antioxidante na mistura variou de 1,25 a

3,75 mmol.kg⁻¹, dependendo da proporção adotada. O valor de HPOIT de 140,53 minutos para a amostra de BMA sem antioxidante mostrou que todas as misturas foram eficientes na proteção do biodiesel.

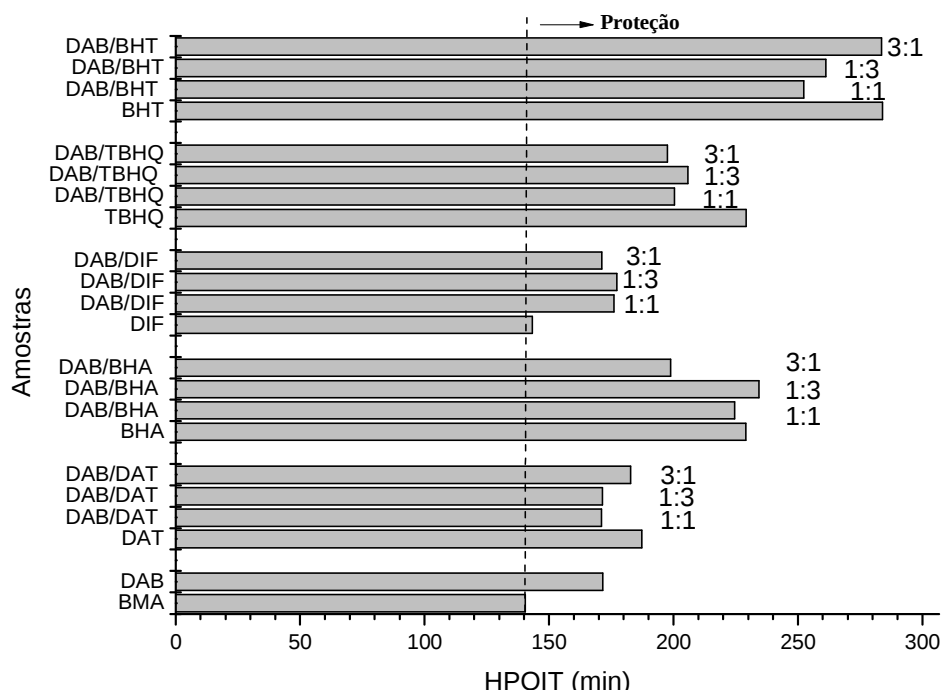
Tabela 12– Valores de HPOIT das amostras de BMA aditivadas com misturas binárias.

Misturas	HPOIT (min)		
	1:1	1:3	3:1
DAB/DAT	171,03	171,37	182,75
DAB /BHA	224,59	234,26	198,84
DAB/DIF	176,10	177,22	171,18
DAB/TBHQ	200,37	205,72	197,58
DAB/BHT	252,32	261,18	283,56

Verificou-se que para as misturas binárias DAB/DAT o aumento da concentração de DAT (1:3) não elevou o valor de HPOIT. Entretanto, uma maior proporção de DAB proporcionou um aumento de 7% no valor do efeito protetor. Na mistura DAB/BHA observou-se que o aumento da concentração de DAB diminuiu o valor de HPOIT, logo pode-se afirmar que a maior concentração de BHA ocasiona aumento da estabilidade oxidativa do biodiesel. Em relação às misturas DAB/DIF e DAB/TBHQ não foi verificado alteração significativa nos valores de HPOIT com as diferentes proporções de cada antioxidante, isto é, uma variação inferior a 5%. E na mistura DAB/BHT o maior valor de HPOIT foi na proporção 3:1, indicando que a maior concentração de DAB foi determinante para aumentar estabilidade oxidativa do BMA.

A Figura 17 mostra um gráfico com os valores de HPOIT obtidos para as amostras de BMA aditivadas com as misturas binárias nas três proporções, comparados com o biodiesel não aditivado (BMA) e os valores de HPOIT do BMA com apenas um antioxidante, na concentração 5,0 mmol.kg⁻¹.

Figura 17 – Valores de HPOIT para as amostras BMA com e sem antioxidante.



Os valores de HPOIT do BMA com apenas um antioxidante na concentração $5,0 \text{ mol.kg}^{-1}$ foram próximos às suas respectivas misturas, com exceção do valor observado para BMA/TBHQ. Entre os antioxidantes presentes nas misturas binárias foi encontrado melhor eficiência para o BHT, em razão do melhor da melhor estabilidade das amostras aditivadas com BHT puro e mistura DAB/BHT.

A eficiência antioxidante das misturas DAB/DIF em todas as proporções foi superior à apresentada quando DIF foi usado na concentração $5,0 \text{ mol.kg}^{-1}$, portanto esse efeito protetor pode ser atribuído a amina DAB. Na amostra contendo a mistura DAB/TBHQ o maior valor HPOIT foi referente à proporção 1:3, indicando que o TBHQ foi responsável por esse aumento. No entanto, o valor de HPOIT da amostra com TBHQ na concentração $5,0 \text{ mmol.kg}^{-1}$ foi superior aos valores das amostras aditivadas com as misturas.

Os valores de HPOIT das amostras com a mistura DAB/DAT e DAB/BHA evidenciam que os antioxidantes DAT e BHA, respectivamente, foram os responsáveis pelo aumento da estabilidade oxidativa do biodiesel.

A análise dos resultados obtidos das curvas isotérmicas P-DSC mostrou que para o biodiesel de algodão o melhor antioxidante ($c = 5,0 \text{ mmol.kg}^{-1}$) foi o ácido cafeico, seguido do BHT.

5.3.2.2. Análise por PetroOxy

A Tabela 13 mostra os valores de período de indução obtidos no teste de degradação oxidativa PetroOxy para o BMA sem e com antioxidante em diferentes concentrações.

Tabela 13- Período de indução das amostras de BMA com e sem antioxidante obtido por PetroOxy.

Amostra	Período de Indução (h)				
	sem antioxidante	Concentração dos antioxidantes (mmol.kg ⁻¹)			
		1,25	2,50	3,75	5,00
BMA	2,21				
BMA/DAT		2,69	3,03	3,41	3,72
BMA/DAB		2,58	2,82	3,08	2,58
BMA/DIF		2,08	2,20	2,02	2,23
BMA/AC		2,88	3,97	5,13	6,85
BMA/TBHQ		2,25	2,40	2,50	2,58
BMA/BHA		2,80	3,23	3,65	4,02
BMA/BHT		2,78	3,17	4,25	4,83

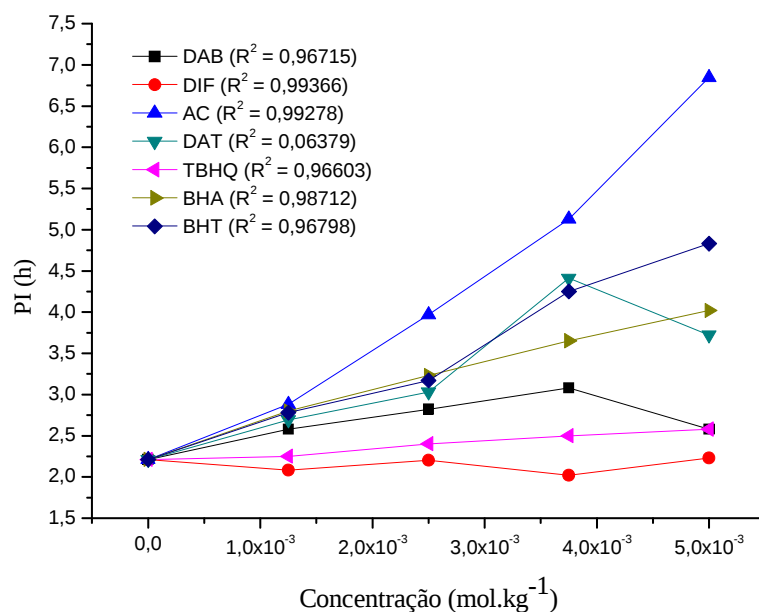
Nas amostras de BMA aditivadas foi verificado que entre os antioxidantes aminados, DAB e DAT foram mais eficientes que DIF, sendo esta última sem atividade antioxidante.

Na menor concentração a eficiência dos antioxidantes aditivados ficou disposta na seguinte ordem: AC>BHA>BHT>DAT>DAB>TBHQ>DIF, com proteção máxima de 30%. Nas demais concentrações o efeito protetor variou entre 9% e 118%.

Na amostra BMA/AC o fator de proteção máximo provocado pela adição de AC foi de 3,0 vezes com relação ao biodiesel puro. Novamente, dentro os antioxidantes avaliados o AC mostrou-se o mais eficiente antioxidante para o BMA, corroborando com os resultados obtidos através da técnica P-DSC. Referente às amostras BMA/DIF não foi observado efeito protetor ao biodiesel nas concentrações analisadas de DIF. Este fato também foi comprovado pela técnica P-DSC e ainda corrobora com os resultados da amostra BMS/DIF obtidos através da técnica Rancimat.

A Figura 18 mostra o gráfico dos valores de PI das amostras de BMA aditivadas com antioxidantes em diferentes concentrações. É possível verificar que há correlação entre a concentração do antioxidante e o período de indução, com exceção da amostra DAT.

Figura 18 – Variação do PI em função da variação da concentração do antioxidante.



De acordo com a técnica PetroOxy a ordem de proteção à oxidação dos antioxidantes isolados na concentração 5,00 mmol.kg⁻¹ é a seguinte:

$$\text{AC} > \text{BHT} > \text{BHA} > \text{DAT} > \text{DAB} \sim \text{TBHQ} > \text{DIF}$$

Esta ordem corrobora em com os resultados obtidos pela técnica P-DSC onde o melhor antioxidante foi o ácido caféico, seguido do BHT e como pior antioxidante a DIF.

5.3.2.2.1. Estabilidade oxidativa do BMA aditivado com misturas binárias

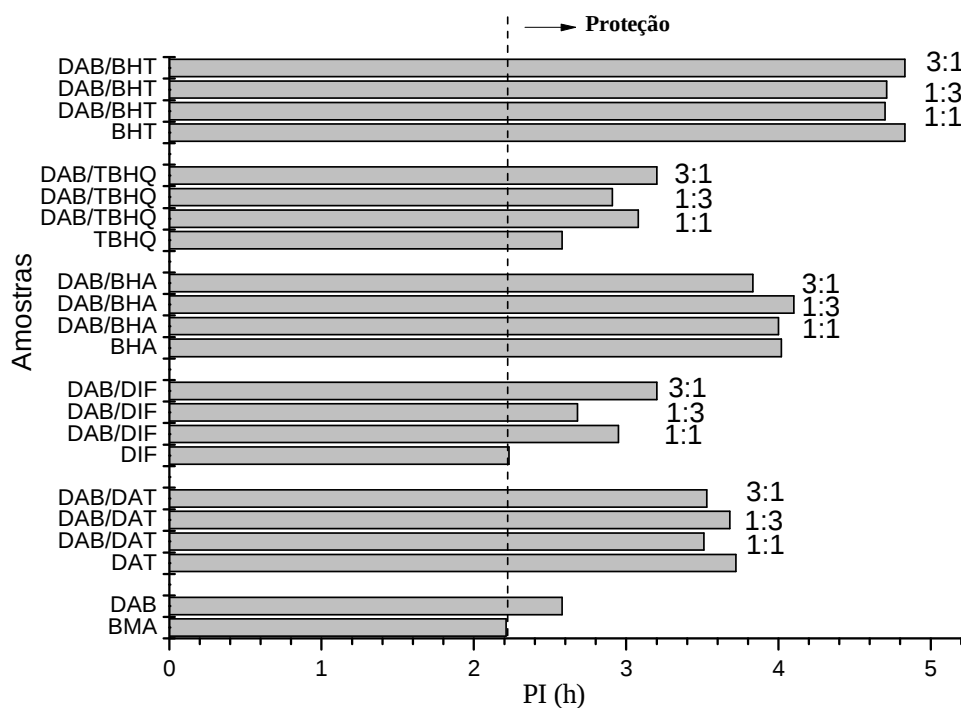
A eficiência das misturas binárias em reduzir o processo de degradação oxidativa do biodiesel metílico de algodão foi avaliada também através dos valores de PI, obtidos na técnica PetroOxy, Tabela 14. A concentração total dos antioxidantes usada no BMA foi de 5,0 mmol.kg⁻¹. Desta forma, a concentração do antioxidante na mistura variou de 1,25 a 3,75 mmol.kg⁻¹, dependendo da proporção adotada. O valor de PI de 2,21 h para a amostra de BMA sem antioxidante mostrou que todas as misturas foram eficientes na proteção do biodiesel.

Tabela 14 - Período de indução para as amostras BMA aditivadas com misturas binárias de antioxidantes.

Misturas	PI (h)		
	1:1	1:3	3:1
DAB/DAT	3,51	3,68	3,53
DAB/DIF	2,95	2,68	3,20
DAB/BHA	4,00	4,10	3,83
DAB/TBHQ	3,08	2,91	3,20
DAB/BHT	4,70	4,71	4,83

De acordo com a Tabela 14, verificou-se que as misturas apresentaram um maior período de indução comparado aos antioxidantes isolados. As melhores misturas foram DAB/BHT (3:1, 1:3 e 1:1) > DAB/BHA (1:3, 1:1 e 3:1) > DAB/DAT (1:3, 3:1 e 1:1) > DAB/TBHQ (3:1, 1:1, 1:3) > DAB/DIF (3:1, 1:1 e 1:3). Estas foram eficientes no aumento da estabilidade oxidativa do biodiesel de algodão. A Figura 19 mostra um gráfico com os valores PI obtidos referente às amostras de BMA com as misturas nas três proporções, determinadas por PetroOxy, comparadas com o biodiesel puro e os valores de PI dos antioxidantes puros na concentração 5,0 mmol.kg⁻¹.

Figura 19 – Valores de PI para as amostras de BMA com e sem antioxidante.



As amostras de BMA aditivadas com BHT e com a mistura DAB/BHT promoveram maior estabilidade oxidativa do biodiesel de algodão.

CONCLUSÃO

6. Conclusão

A partir desta pesquisa, pode ser concluído que tanto o biodiesel do óleo de soja quanto o de óleo de algodão tiveram aumento na estabilidade oxidativa quando foram aditivados com antioxidantes aminados e fenólicos. Dentre os antioxidantes testados no biodiesel metílico de soja (BMS) na menor concentração ($1,2 \text{ mmol.kg}^{-1}$), as aminas 1,2-diaminobenzeno (DAB) e 3,4-diaminotolueno (DAT) foram mais eficientes que os compostos fenólicos, com exceção do ácido cafeico (AC). As amostras de BMS aditivadas com as aminas DAB e DAT em todas as concentrações avaliadas apresentaram um valor de PI acima do exigido pela ANP. Nas concentrações $\geq 2,5 \text{ mmol.kg}^{-1}$ todos os antioxidantes, com exceção da difenilamina (DIF), elevaram o período de indução acima de 6 h. Na técnica P-DSC a maior eficiência entre as aminas foi para a DAB com o efeito protetor de 68%, entretanto, inferior à proteção do AC. Comparando a influência das aminas na estabilidade do biodiesel metílico de algodão (BMA), na menor concentração, os dados de P-DSC evidenciaram maior proteção quando aditivado com DAB, entretanto, inferior ao verificado para BHT. Um efeito protetor também foi observado na técnica PetroOxy para as aminas, com exceção de DIF. A falta de uma boa correlação entre os valores de período de indução ou de HPOIT em função do aumento da concentração do antioxidante dificultou avaliar o efeito sinérgico dos antioxidantes nas misturas binárias usadas na proteção do biodiesel. No entanto, o ensaio com o radical DDPH mostrou que a mistura DAB/DAT e DAB/BHA tiveram efeito sinérgico de 30% e 140%, respectivamente.

REFERÊNCIAS

7. Referências

1. **ANP Agência Nacional do Petróleo (ANP), Gás Natural e Biocombustíveis.** n: Resolução ANP N° 14; de 11.5.2012 - DOU 18.5.2012. Rio de Janeiro, Brazil. <http://www.anp.gov.br>. Accessed 10 Jan 2014.
2. **EN 14112 - Fat and Oil Derivatives. Fatty Acid Methyl Esters (FAME). Determination of Oxidation Stability. Normalisation, Comité Européen de Normalisation Comité Européen de.** 2003, Method EN 14112 (Accelerated Oxidation Test).
3. **Pullen J, Saeed K.** An overview of biodiesel oxidation stability. *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* 2012, Vol. 16, pp. 5924–5950.
4. **Damasceno SS, Santos NA, Santos IMG, Souza AL, Souza AG, Queiroz N.** Caffeic and ferulic acids: an investigation of the effect of antioxidants on the stability of soybean biodiesel during storage. *Fuel.* 2013, Vol. 107, pp. 641-646.
5. **Kivevele TT, Mbarawa MM, Bereczky A, Lazas T, Madarasz J.** Impact of antioxidant additives on the oxidation stability of biodiesel produced from Croton Megalocarpus oil. *Fuel Processing Technology.* 2011, Vol. 92, pp. 1244-1248 .
6. **Dinkov R, Hristov G, Stratiev D, Aldayri VB.** Effect of commercially available antioxidants over biodiesel/diesel blends stability. *Fuel.* 2009, Vol. 88, pp. 732–7.
7. **Yang Z, Hollebone BP, Wang Z, Yang C, Landriault M.** Factors affecting oxidation stability of commercially available biodiesel products. *Fuel Processing Technology.* 2013, Vol. 106, pp. 366-375.
8. **Sousa LS, Moura CVR, Oliveira JE, Moura EM.** Use of natural antioxidants in soybean biodiesel. *Fuel.* 2014, Vol. 134, pp. 420-428.
9. **Sarin A, Arora R, Singh NP, Sarin R, Malhotra RK.** Oxidation Stability of Palm Methyl Ester: Effect of Metal Contaminants and Antioxidants. *Energy Fuels* . 2010, Vol. 24, pp. 2652–2656.
10. **Xin J, Imahara H.** Oxidation stability of biodiesel fuel as prepared by supercritical methanol. *Fuel.* 2008, Vol. 87, pp. 1807-1813.
11. **Focke WW, van der Westhuizen I, Lofté Groblera AB, et al.** The effect of synthetic antioxidants on the oxidative stability of biodiesel. *Fuel.* 2012, Vol. 94, pp. 227-233.
12. **Silitonga AS, Ong HC, Mahlia TMI, Masjuki HH, Chong WT.** Characterization and production of Ceiba pentandra biodiesel and its blends. *Fuel.* 2013, Vol. 108, pp. 855–8.
13. **Ong H.C, Silitonga AS, Masjuki HH, Mahlia TMI, Chong WT, Boosroh MH.** Production and comparative fuel properties of biodiesel from non-edible oils: Jatropha curcas, Sterculia foetida and Ceiba pentandra. *Energy Conversion and Management.* 2013, pp. 73:245–55.
14. **Stacy CJ, Melick CA, Cairncross RA.** Esterification of free fatty acids to fatty acid alkyl esters in a bubble column reactor for use as biodiesel. *Fuel Processing Technology.* 2014, Vol. 124, pp. 70-77.

15. **Zhang Y, Wong W-T, Yung K-F.** Biodiesel production via esterification of oleic acid catalyzed by chlorosulfonic acid modified zirconia. *Applied Energy*. 2014, Vol. 116, pp. 191-198.
16. **Obadiah A, Kannan R, Ramasubbu A, Kumar SV.** Studies on the effect of antioxidants on the long-term storage and oxidation stability of Pongamia pinnata (L.) Pierre biodiesel. *Fuel Processing Technology*. 2012, pp. 99:56–63. .
17. **Knothe G, Dunn R.** Dependence of oil stability index of fatty compounds on their structure and concentration and presence of metals. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 2003, pp. 80:1021–6.
18. **Fattah IMR, Masjuki HH, Kalam MA, Hazrat MA, Masum BM, Imtenan S, Ashraful AM.** Effect of antioxidants on oxidation stability of biodiesel derived from vegetable and animal based feedstocks. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2014, Vol. 30, pp. 356–370.
19. **Varatharajan K, Cheralathan M.** Effect of aromatic amine antioxidants on NO_x emissions from a soybean biodiesel powered DI diesel engine. *Fuel Processing Technology*. 2013, Vol. 106, pp. 529-521.
20. **Fattah IMR, Masjuki HH, Kalam MA, Mofijur M, Abedin MJ.** Effect of antioxidant on the performance and emission characteristics of a diesel engine fueled with palm biodiesel blends. *Energy Conversion and Management*. 2014, Vol. 79, pp. 265–272.
21. **Knothe G.** Some aspects of biodiesel oxidative stability. *Fuel Processing Technology*. 2007, Vol. 88, pp. 669-677.
22. **Carocho M, Ferreira ICFR.** A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology* . 2013, Vol. 51, pp. 15-25.
23. **Wanasundara PKJPD, Shahidi F.** Antioxidants: Science, Technology, and Application. [A. do livro] Shahidi F. *Bailey's Industrial Oil and Fat Product*. s.l. : John Wiley & Sons, Inc, 2005, Vol. Sixth edition, pp. 431-489.
24. **Schneider C.** An update on products and mechanisms of lipid peroxidation. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2009, pp. 53:315–21.
25. **Serrano M, Bouaid A, Martínez M, Aracil J.** Oxidation stability of biodiesel from different feedstocks: influence of commercial additives and purification step. *Fuel*. 2013, Vol. 113, pp. 50-58.
26. **Karavalakis G, Hilari D, Givalou L, Karonis D, Stournas S.** Storage stability and ageing effect of biodiesel blends treated with different antioxidants. *Energy*. 2011, Vol. 36, pp. 369-374.
27. **Tang H, Wang A, Salley S, Ng KYS.** The effect of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of biodiesel. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 2008, Vol. 85, p. 373.

28. **Denisov ET, Denisova TG.** *Handbook of antioxidants: bond dissociation energies, rates constants, activation energies and enthalpies of reaction.* s.l. : CRC Press, 1999. pp. 65-80. Vol. Second edition.
29. **Maia ECR, Borsato D, Moreira I, Spacino KR, Rodrigues PRP, Gallina AL.** Study of the biodiesel B100 oxidative stability in mixture with antioxidants. *Fuel Processing Technology.* 2011, Vol. 92, pp. 1750-1755.
30. **Terpinc P, Čehb B, Ulriha NP, Abramoviča H.** Studies of the correlation between antioxidant properties and the total phenolic content of different oil cake extracts. *Industrial Crops and Products.* 2012, Vol. 39, pp. 210-217.
31. **Ismail M, Mariod A, Bagalkotkara G, Lingb HS.** Fatty acid composition and antioxidant activity of oils from two cultivars of Cantaloupe extracted by supercritical fluid extraction. *Grasas y Aceites.* 2010, Vol. 61, pp. 37-44.
32. **Neto PRC, LFS Rossi, Zagonel GF, Ramos LP.** Utilization of used frying oil for the production of biodiesel. *Química Nova.* 2000, Vol. 23, pp. 531-537.
33. **Santos NA, Damasceno SS, Araújo PHM, Marques VC, Rosenhaim R, Fernandes VJ, Queiroz N, Santos Ieda IMG, Maia AS, Souza AG.** Caffeic Acid: An Efficient Antioxidant for Soybean Biodiesel Contaminated with Metals. *Energy Fuels.* 2011, Vol. 25, pp. 4190–4194.
34. **Ryu K.** The characteristics of performance and exhaust emissions of a diesel engine using a biodiesel with antioxidants. *Bioresource Technology.* 2010, Vol. 101, pp. 78–82.
35. **Bergmann JC, Tupinamba DD, ACosta OYA, Almeida JRM, Barreto CC, Quirino BF.** Biodiesel production in Brazil and alternative biomass feedstocks. *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* 2013, Vol. 21, pp. 411-420.
36. **Souza AG, Dantas HJ, Silva MCD, Santos IMG, Fernandes Jr VJ, Sinfrônio FSM, Texeira LS G, Novak CS.** Thermal and kinetic evaluation of cotton oil biodiesel. *JTAC.* 2007, Vol. 3, pp. 945-949.
37. **Rodrigues MG, Souza AG, Santos IMG, Bicudo TC, Silva MCD, Sinfrônio FSM, Vasconcelos AFF.** Antioxidative properties of hydrogenated cardanol for cotton biodiesel by pdsc and uv/vis. *JTAC.* 2009, Vol. 97, pp. 605–609.
38. **Fernandes DM, Serqueira DS, Portela FM, Assunção RMN, Munoz RAA , Terrones MGH.** Preparation and characterization of methylic and ethylic biodiesel from cottonseed oil and effect of tert-butylhydroquinone on its oxidative stability. *Fuel.* 2012, Vol. 97, pp. 658-661.
39. **Araujo SV, Luna FMT , Rola Jr EM, et al.** A rapid method for evaluation of the oxidation stability of castor oil FAME: influence of antioxidant type and concentration. *Fuel Processing Technology.* 2009, Vol. 90, pp. 1272-1277.
40. **Araujo SV, Luna FMT, Rola Jr EM, et al.** FTIR assessment of the oxidation process of castor oil FAME submitted to PetroOXY and Rancimat methods. *Fuel Processing Technology.* 2011, Vol. 92, pp. 1152–1155.

41. **Petrotest.** PETROTEST. Disponível em: <www.petrotest.com/media/en/98-150_Oxidation_Stability-PetroOxy.pdf>. Acessado em: 23 de set. 2011. 2011.
42. **Mothé CG, Azevedo AD.** *Análise Térmica de Materiais*. 1 ed. s.l. : Antenna Edições Técnicas, 2009.
43. **Ulkowsk I M, Musialik M, Litwinienko G.** Use of Differential Scanning Calorimetry to Study Lipid Oxidation. 1. Oxidative Stability of Lecithin and Linolenic Acid. *J Agric Food Chem*. 2005, Vol. 53, pp. 9073-9077.
44. **Candeia RA, Sinfronio FS, Bicudo TC, Queiroz N, Barros Filho AKD, et al.** Influence of the storage on the thermo-oxidative stability of methyl and ethyl esters by PDSC. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 2011, Vol. 106, pp. 581-586.
45. **Tavares MLA, Queiroz N, Santos IMG, Souza AL, Cavalcanti EHS, AKD Barros, Rosenhaim R, Soledade LEB, Souza AG.** Sunflower biodiesel: Use of P-DSC in the evaluation of antioxidant efficiency. *JTAC*. 2011, Vol. 106, pp. 575-579.
46. **Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C.** Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*. 1995, Vol. 28, pp. 25-30.
47. **Chen Z, Bertin R, Frolidi G.** Chen Z, Bertin R, Frolidi G. EC50 estimation of antioxidant activity in DPPH_ assay using several statistical programs. *Food Chemistry*. 2013, Vol. 138, pp. 414–420.
48. **Rufino MSM, Alves RE.** Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas no sistema b-caroteno/Ácido Linoléico. http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/down/index.php?pub/cot_126.pdf. [Online] 2006.
49. **Terpinc P, Bezjak M, Abramovič H.** A kinetic model for evaluation of the antioxidant activity of several rosemary extracts. *Food Chemistry*. 2009 e 740–744, 115:.
50. **Kulkarni MG, Dalai AK.** Waste Cooking Oil - An Economical Source for Biodiesel: A Review. *Ind. Eng. Chem. Res*. 2006, Vol. 45, pp. 2901-2913.
51. **ABNT, NBR 14448.** Óleos Lubrificantes e Fluidos Hidráulicos- Determinação do índice de acidez pelo método de titulação potenciométrica.
52. **ABNT.** 2007, Associação Brasileira de Normas Técnicas. Determinação da Viscosidade Cinemática e Cálculo da Viscosidade Dinâmica. Método NBR 10441.
53. **AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM)-** *Standard Test Method for Oxidation Stability of Middle Distillate Fuels—Rapid Small Scale Oxidation Test (RSSOT)*. **ASTM, D7545.** s.l.: American National Standard, 2009, Vols. doi: 10.1520/D7545-09.
54. **ASTM, 6186.** American Society for Testing and Materi-. *ASTM D 6186-98 Standard Test Method for Oxidation Induction*. Philadelphia : s.n., 1998.
55. **Marteau C, Favier D, Nardello-Rataja V, Aubry J-M.** Dramatic solvent effect on the synergy between α -tocopherol and BHT. *Food Chemistry*. 2014, Vol. 160, pp. 190-195.

56. **Aoun M, Makris DP.** Binary mixtures of natural polyphenolic antioxidants with ascorbic acid: impact of interactions on the antiradical activity. *International Food Research Journal*. 2012, Vol. 19, pp. 603-606.
57. **Peyrat-Maillard MN, Cuvelier ME, Berset C.** Antioxidant activity of phenolic compounds in 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH)-Induced oxidation: synergistic and antagonistic effects. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 2003, Vol. 80, pp. 1007-1012.
58. **Wanasundara PKJPD, Shahidi F.** Antioxidants: Science, Technology, and Applications. [A. do livro] Shahidi F. *Livro Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. s.l. : John Wiley & Sons, Inc., 2005.