



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

Dissertação de Mestrado

***Avaliação da Atividade Antioxidante dos Ácidos Caféico e Ferúlico
no Controle da Estabilidade Oxidativa do Biodiesel de Soja***

Sarah Soares Damasceno

**João Pessoa – PB
Dezembro / 2011**



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

Dissertação de Mestrado

***Avaliação da Atividade Antioxidante dos Ácidos Caféico e Ferúlico
no Controle da Estabilidade Oxidativa do Biodiesel de Soja***

Sarah Soares Damasceno*

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.

Orientadores: Prof^ª Dr^ª Neide Queiroz

Prof. Dr. Antonio Gouveia de Souza

***Bolsista CAPES**

João Pessoa – PB

Dezembro/ 2011

D155a Damasceno, Sarah Soares.

*Avaliação da atividade antioxidante dos ácidos
caféico e ferúlico no controle da estabilidade oxidativa do
biodiesel de soja / Sarah Soares Damasceno.-- João
Pessoa, 2011.*

96f. : il.

*Orientadores: Neide Queiroz, Antonio Gouveia de
Souza*

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN

DEDICATÓRIA

*A Deus, fonte de misericórdia e fidelidade.
Aos meus pais, Fatima e Leonidas Damasceno, pelo imenso amor, confiança e compreensão
a mim dedicados.
A minha irmã Simone Damasceno, pelo apoio e amizade incondicional*

AGRADECIMENTOS

A Deus, o autor da vida, a quem eu rendo minha gratidão eterna, por sua fidelidade em todos os momentos da minha caminhada.

Aos meus pais, Fatima e Leonidas Damasceno, pelo amor e cuidado, pela educação e princípios que me legaram, por nunca terem medido esforços ao longo dessa minha jornada acadêmica, vocês são a prova do amor de Deus em minha vida.

À minha irmã Simone, pelo apoio e amizade incondicional em todos os momentos da minha vida, pela dedicação e encorajamento na elaboração deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Antonio Gouvea de Souza, pela orientação, profissionalismo e por tornar possível a realização deste trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Neide Queiroz, pela orientação e amizade.

Aos meus padrinhos, pelo cuidado e incentivo, sempre presentes em minha vida.

À minha prima Patricia, pela amizade e parceria em momentos difíceis.

Às amigas Andrea Suame, Clediana e Flávia pelo apoio nos momentos difíceis, vocês foram peças singulares na conclusão deste trabalho.

Ao amigo e irmão Juninho (Luiz Pedro) e Clécia, por sua acolhida e amizade a mim dedicadas.

Aos amigos do laboratório: Marco Aurélio, Herbet, Jandilson, João Jarllys, Jerffeson, Augusto, Cristiano, Poliana, Adervando (Kiko), Alex, Arnáira, Anderson Reis, Guilherme, Suelânio, Marcia, Daniella, Rebeca, Anderson, Ielena, Yago, Verônica, Pedro, Felipe, Tiago, Lu, Kassandra, Jaqueline, Raul e Luzenir. Obrigada pela amizade e significativas contribuições na realização deste trabalho.

À Teta e Angela, pela amizade e disponibilidade em realizar as análises físico- químicas.

À Lúcia, pelos valiosos ensinamentos de análise térmica.

À Nataly pelas discussões e parcerias de trabalho.

À Evaneide pela amizade e realização das análises cromatográficas

Às minhas queridas amigas de graduação, Luceth, Naty, Rose e Andrea vocês são parte da minha família do coração.

Aos professores do Lacom, em especial ao Prof. Dr. José Rodrigues, pelo exemplo de profissionalismo e ética.

Ao secretário do Programa de Pós-Graduação em Química, Marco Pequeno.

*“Se as coisas são inatingíveis...ora!
não é motivo para não querê-las...
Que tristes os caminhos, se não fora
a mágica presença das estrelas!”*

Mario Quintana

Título: Avaliação da atividade antioxidante dos ácidos caféico e ferúlico no controle da estabilidade oxidativa do biodiesel de soja.

Autor (a): Sarah Soares Damasceno

Orientadores: Prof^a Dr^a Neide Queiroz e Prof. Dr. Antônio Gouveia de Souza

RESUMO

A oxidação lipídica é um fator crítico na perda da qualidade do biodiesel, em particular do biodiesel de soja, pois a sua composição em ésteres favorece o desenvolvimento da degradação oxidativa, devido à quantidade em ésteres de ácidos graxos insaturados tais como, oleato, linoleato e linolenato de etila. Neste trabalho, técnicas aceleradas (rancimat, petroOXY e análise térmica) e a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) foram realizadas a fim de determinar a estabilidade oxidativa do biodiesel etílico de soja (BSJ) e do biodiesel aditivado com os antioxidantes, ácido caféico (BSC), ácido ferúlico (BSF) e *terc*-butilhidroquinona (BST) durante o período de armazenamento. Na determinação do período de indução (PI) pelo método rancimat os três antioxidantes foram eficientes em retardar o processo oxidativo no tempo inicial do armazenamento. Diferentemente das amostras BSF e BST, a amostra BSC manteve o valor de PI durante o período de estocagem acima do valor requerido pela EN 14214. A estabilidade oxidativa analisada pelo método petroOXY mostrou a mesma convergência nos resultados, ou seja, o ácido caféico foi o antioxidante mais eficiente durante todo o período de armazenamento. Em comparação com o método rancimat e petroOXY, a técnica de calorimetria diferencial de varredura pressurizada (P-DSC) mostrou a mesma susceptibilidade à oxidação para as amostras avaliadas. Esta técnica mostrou ser útil para aplicar na avaliação da estabilidade oxidativa do biodiesel contendo antioxidantes, requerendo menor quantidade de amostra e menor tempo de análise. Na avaliação à resistência térmica dos antioxidantes por termogravimetria foi observado uma menor temperatura de decomposição para o *terc*-butilhidroquinona em relação aos demais antioxidantes, esse fato corroborou com os valores de tempo de indução oxidativa e período de indução obtidos pelas técnicas aceleradas. O monitoramento da concentração dos ésteres insaturados por HPLC durante o armazenamento mostrou maior redução na concentração do oleato e linolenato de etila para a amostra BSJ. A ação dos antioxidantes foi evidenciada pela menor redução na concentração de ésteres para as amostras de BSC, BST e BSF. A estabilidade oxidativa das amostras de biodiesel avaliadas por rancimat, petroOXY, P-DSC mostrou a seguinte tendência: BSC > BSF > BST. Já por HPLC a ordem de maior resistência à oxidação foi: BSC > BST > BSF. De acordo com os resultados obtidos, concluiu-se que a atividade antioxidante está correlacionada a sua estrutura molecular e a estabilidade térmica.

Palavras chaves: Biodiesel de soja. Estabilidade oxidativa. Antioxidantes. Técnicas aceleradas. Cromatografia.

Title: Evaluation of antioxidant activity of caffeic and ferulic acids in controlling the oxidative stability of biodiesel from soybean.

Author (a): Sarah Soares Damasceno

Advisers: Prof^a Dr^a Neide Queiroz e Prof. Dr. Antônio Gouveia de Souza

ABSTRACT

The lipid oxidation is a critic factor in the biodiesel quality loss, in particular of soy biodiesel, because its esters composition favors the development of the oxidative degradation, due to the amount of the unsaturated fatty acid esters such as, oleate, linoleate and ethyl linolenate. In this work, accelerated techniques (rancimat, petroOXY and thermal analysis) high performance liquid chromatography (HPLC) was done in order to determine the oxidative stability of biodiesel from soybean (BSJ) and from the additive biodiesel with antioxidants, caffeic acid (BSC), ferulic acid (BSF) and *tert*-butylhydroquinone (BST) during the storage period. In determining the induction period (PI) by the rancimat method the three antioxidants were effective in delaying the oxidation process at the initial time of storage. Different from the BSF and BST samples, the BSC sample kept its PI value during the storage period above the value required by the EN 14112 standard. The oxidative stability assayed by the petroOXY method showed the same convergence in its results, ie, the caffeic acid was the most efficient antioxidant throughout the storage period. In comparison to the rancimat and petroOXY method, the technique of pressurized differential scanning calorimetry (P-DSC) showed the same susceptibility to oxidation for the evaluated samples. This method proved to be useful to apply in the oxidative stability of biodiesel evaluation with antioxidants, requiring less quantity of samples and less analysis time. In evaluating the thermal resistance of antioxidants was observed by thermogravimetry a lower decomposition temperature for the *tert*-butylhydroquinone compared to other antioxidants, confirmed this fact with the values of oxidation induction time and induction period obtained by the techniques accelerated. Monitoring the concentration of unsaturated esters by HPLC during storage showed a greater reduction in the concentration of ethyl oleate and linolenato BSJ for the sample. The action of antioxidants was evidenced by a smaller reduction in the concentration of esters for samples of BSC, BST and BSF. The oxidative stability of biodiesel samples evaluated by Rancimat, petroOXY, P-DSC showed the following trend: BSC > BSF > BST. Since the order of HPLC greater resistance to oxidation: BSC > BST > BSF. According to the results obtained showed that the antioxidant activity is correlated to its molecular structure and thermal stability.

Key Words: Biodiesel from soybeans. Oxidative stability. Antioxidants. Accelerated techniques. Chromatography.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Estrutura molecular do ácido palmítico.....	20
Figura 2	Estrutura molecular do ácido oléico.....	20
Figura 3	Estrutura molecular do ácido linoléico.....	21
Figura 4	Estrutura molecular do ácido linolênico.....	21
Figura 5	Mecanismo clássico da reação de autoxidação de cadeias graxas.....	22
Figura 6	Mecanismo de rearranjo na etapa de propagação da autoxidação para a molécula de ácido linolênico.....	25
Figura 7	Mecanismo de reação entre o oxigênio singlete e olefina, formando produtos que podem iniciar a autoxidação.....	26
Figura 8	Reação de Diels Alder	27
Figura 9	Representação esquemática da variação de pressão do teste oxidativo PetroOXY.....	28
Figura 10	Representação esquemática do processo de separação de dois compostos, denominados A e B, em uma coluna cromatográfica.....	309
Figura 11	Estrutura molecular dos principais dos ácidos benzóicos.....	32
Figura 12	Estrutura molecular dos principais ácidos cinâmicos.....	32
Figura 13	Estrutura molecular das cumarinas.....	32
Figura 14	Mecanismo de doação do hidrogênio fenólico a um radical livre.....	33
Figura 15	Estrutura molecular do ácido caféico e ácido ferúlico.....	36
Figura 16	Estrutura química dos antioxidantes sintéticos, butil-hidroxi-anisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), propil galato (PG) e terc-butil-hidroquinona (TBHQ).....	37
Figura 17	Tanques de aço carbono utilizados para o armazenamento das amostras de biodiesel de soja aditivada e não aditivada com antioxidantes.	45
Figura 18	Fluxograma das análises realizadas durante o armazenamento.....	45

ARTIGO 1

Figura 1	Estrutura química do ácido caféico (a) e ácido ferúlico (b).....	50
Figura 2	Valores de período de indução em função do tempo para as amostras BSJ biodiesel de soja sem antioxidante, BSC com antioxidante ácido caféico, BSF aditivada com ácido ferúlico e BST com TBHQ nos tempos: inicial, 30, 60 e 90 dias.....	53
Figura 3	Mecanismo possível da atividade antioxidante do ácido caféico (R-representa a cadeia carbônica do éster).....	55
Figura 4	Valores de período de indução em função do tempo para as amostras BSJ biodiesel de soja sem antioxidante, BSC com antioxidante ácido caféico, BSF aditivada com ácido ferúlico e BST com TBHQ nos tempos: inicial, 30, 60 e 90 dias.....	56
Figura 5	Curvas de P-DSC no modo isotérmico (a) tempo inicial (b) tempo 30 dias (c) tempo 60 dias (d) tempo 90 dias para as amostras de BSJ, BSC, BSF e BST.....	57
Figura 6	Valores de OIT obtidos pela técnica P-DSC em função do tempo para as amostras BSJ biodiesel de soja sem antioxidante, BSC com antioxidante ácido caféico, BSF aditivada com ácido ferúlico e BST com TBHQ.....	58
Figura 7	Curvas termogravimétricas dos antioxidantes a) TBHQ b) ácido ferúlico c) ácido caféico.....	59

ARTIGO 2

Figura 1	Cromatograma de HPLC com os ésteres: linolenato, linoleato e oleato de etila, presentes na mostra do biodiesel de soja.....	69
Figura 2	Curvas de calibração dos ésteres a) linolenato de etila b)linoleato de etila c) oleato de etila.....	69
Figura 3	Concentração do oleato de etila (em %) em função do tempo, obtido por HPLC para as amostras BSJ biodiesel de soja sem antioxidante, BSC biodiesel de soja aditivada com ácido caféico, BSF biodiesel de soja com o antioxidante ácido ferúlico, BST biodiesel de soja com TBHQ.....	70
Figura 4	Concentração do linoleato de etila em função do tempo, obtido por HPLC para as amostras BSJ biodiesel de soja sem antioxidante, BSC biodiesel de soja aditivada com ácido caféico, BSF biodiesel de soja com o antioxidante ácido ferúlico, BST biodiesel de soja com TBHQ.....	71
Figura 5	Concentração do linolenato de etila em função do tempo, obtido por HPLC para as amostras BSJ biodiesel de soja sem antioxidante, BSC biodiesel de soja aditivada com ácido caféico, BSF biodiesel de soja com o antioxidante ácido ferúlico, BST biodiesel de soja com TBHQ.....	72
Figura 5	Valores do índice de iodo para as amostras BSJ sem antioxidante (controle), BSC aditivada com ácido caféico, BSF aditivada com ácido ferúlico, e BST aditivada com TBHQ.....	72
Figura 6	Valores do índice de iodo para as amostras BSJ sem antioxidante (controle), BSC aditivada com ácido caféico, BSF aditivada com ácido ferúlico, e BST aditivada com TBHQ.....	73
Figura 7	Valores do índice de peróxido para as amostras BSJ sem antioxidante (controle), BSC aditivada com ácido caféico, BSF aditivada com ácido ferúlico, e BST aditivada com TBHQ.....	74
Figura 8	Valores do índice de acidez para as amostras BSJ sem antioxidante (controle), BSC aditivada com ácido caféico, BSF aditivada com ácido ferúlico, e BST aditivada com TBHQ.....	75

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela 1	Composição de ésteres de ácidos graxos do biodiesel de soja.....	52
Tabela 2	Propriedades físico-químicas do biodiesel etílico de soja antes do armazenamento	53
Tabela 3	Valores obtidos das curvas TG/DTA.....	59

ARTIGO 2

Tabela 1	Composição de ésteres de ácido graxo do biodiesel de soja.....	68
Tabela 2	Valores da Constante de Calibração.....	67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC- Ácido caféico

AF- Ácido ferúlico

ANP- Agência Nacional de Petróleo Gás Natural e Biocombustível

BHA- Butil-hidroxi-anisol

BHT- Butil-hidroxitolueno

BSC- Biodiesel de soja aditivado com ácido caféico

BSF- Biodiesel de soja aditivado com ácido ferúlico

BSJ- Biodiesel de soja

BST- Biodiesel de soja aditivado com TBHQ

HPLC- *High Performance Liquid Chromatography* (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência).

¹H-NMR- *Próton nuclear magnetic resonance* (Resonância Magnética Nuclear de Próton)

DFT- *Density Functional Theory* (Teoria Funcional da Densidade)

DPPH- Radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil

DSC- *Differential Scanning Calorimetry* (Calorimetria Diferencial de Varredura)

DTA- *Differential Thermal Analysis* (Análise Térmica Diferencial)

FE- Fase estacionária

FM- Fase móvel

HPOIT- *High Pressure Oxidation Induction Time* (Tempo de indução oxidativa a altas pressões)

IA- Índice de acidez

LE- Linoleato de etila

LnE- Linolenato de etila

LTP- polifenol de chá lipídio-solúvel

OE- Oleato de etila

OIT- *Oxidation Induction Time* (Tempo de indução oxidativa)

pCA- Ácido *p*-cumárico

P-DSC- *Pressure Differential Scanning Calorimetry* (Calorimetria Diferencial de Varredura Pressurizada)

PI- Período de indução

TBHQ - *terc*-butilhidroquinona

TG - *Thermogravimetry* (Termogravimetria)

Δ HOF- Variação de entalpia de formação

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	OBJETIVOS.....	19
2.1	Objetivo geral.....	19
2.2	Objetivos específicos.....	19
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	20
3.1	Óleos, gorduras e biodiesel.....	21
3.1.1	<i>Biodiesel de soja</i>	22
3.2	Processo oxidativo.....	23
3.2.1	<i>Auto-oxidação</i>	23
3.2.2	<i>Foto-oxidação</i>	26
3.2.3	<i>Oxidação térmica</i>	27
3.3	Análise térmica e oxidativa.....	27
3.3.1	<i>Princípios</i>	27
3.4	Cromatografia líquida de alta eficiência.....	29
3.4.1	<i>Princípios</i>	29
3.5	Compostos fenólicos.....	31
3.6	Ácidos fenólicos.....	31
3.7	Ácido caféico.....	34
3.8	Ácido ferúlico.....	35
3.8.1	<i>Aspectos estruturais AC AF</i>	37
3.9	Antioxidantes sintéticos	37
4	METODOLOGIA.....	39
4.1	Antioxidantes.....	39
4.1.1	<i>Obtenção do ácido caféico e ácido ferúlico</i>	39
4.1.2	<i>Estudo térmico</i>	39
4.2	Óleo de soja.....	39
4.2.1	<i>Obtenção</i>	39
4.2.2	<i>Caracterização físico-química</i>	39
4.2.2.1	<i>Índice de acidez</i>	
4.2.2.2	<i>Índice de iodo</i>	40
4.2.2.3	<i>Índice de peróxido</i>	41

4.2.2.4	<i>Teor de água.....</i>	41
4.2.2.5	<i>Viscosidade cinemática.....</i>	41
4.2.2.6	<i>Estabilidade à oxidação-rancimat.....</i>	42
4.2.2.7	<i>Ponto de névoa.....</i>	42
4.2.2.8	<i>Ponto de fluidez.....</i>	42
4.2.2.9	<i>Ponto de entupimento filtro a frio.....</i>	42
4.3	Biodiesel de soja.....	43
4.3.1	<i>Síntese do biodiesel.....</i>	43
4.3.2	<i>Caracterização físico-química.....</i>	43
4.3.2.1	<i>Estabilidade à oxidação- petroOXY.....</i>	44
4.3.2.2	<i>Ponto de fulgor.....</i>	44
4.3.2.3	<i>Resíduo de carbono.....</i>	44
4.4	Aditivção e armazenamento.....	44
4.5	Processo oxidativo com tempo de estocagem.....	45
4.5.1	<i>Técnicas aceleradas.....</i>	46
4.5.1.1	<i>Rancimat.....</i>	46
4.5.1.2	<i>PetroOXY.....</i>	46
4.5.1.3	<i>Calorimetria Diferencial de Varredura Pressurizada.....</i>	46
4.5.2	<i>Cromatografia líquida de alta resolução.....</i>	46
4.5.2.1	<i>Curva analítica.....</i>	47
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
5.1	ARTIGO 1: ÁCIDOS CAFÉICO E FERÚLICO: IVESTIGAÇÃO ANTIOXIDANTE NA ESTABILIDADE DO BIODIESEL DE SOJA POR TÉCNICAS ACELERADAS.....	48
5.2	ARTIGO 2: ÁCIDOS CAFÉICO E FERÚLICO: IVESTIGAÇÃO ANTIOXIDANTE NA ESTABILIDADE DO BIODIESEL DE SOJA POR HPLC.....	64
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	80
	REFERÊNCIAS.....	81
	APÊNDICE	

1. INTRODUÇÃO

As fontes de energia sustentáveis e renováveis tornaram-se mais atraentes devido aos benefícios ambientais. Neste contexto, merece destaque o biodiesel, denominado como ésteres alquílicos de ácidos graxos de cadeia longa. Em virtude de sua biodegradabilidade e baixa emissão de poluentes quando comparado ao diesel de petróleo, esse combustível apresenta-se como uma adequada fonte de energia (LEUNG; MONZ, 2006). Em relação aos fatores socioeconômicos o biodiesel surge como outra fonte de renda ao setor agrícola. Sendo instituído na matriz energética brasileira em janeiro de 2005 mediante lei Nº11. 097. Esta lei regulamenta a utilização comercial do biocombustível, além de prever as misturas existentes entre diesel e biodiesel (ANP, 2005).

Neste sentido, estudos vêm sendo desenvolvidos a fim de aperfeiçoar a qualidade do biodiesel, em função de cada oleaginosa, buscando assim aprimorar as propriedades físico – químicas, e então, solucionar os problemas existentes na área do controle da qualidade, armazenamento e outros (RODRIGUES FILHO, 2010). No Brasil, entre as matérias – primas utilizadas na obtenção do biodiesel pode-se destacar o óleo de soja.

O mercado brasileiro de agronegócio ocupa a segunda maior produção de soja a nível mundial, com espaço territorial de aproximadamente 22 milhões de hectares (QUINTELLA *et al.*, 2009, p. 800). Apesar do baixo teor de óleo, cerca de 18%, a soja possui a logística e o ciclo tecnológico desenvolvidos para atender a demanda do mercado (BIODIESELBR, 2009). Com produção de duas vezes ao ano, é uma oleaginosa de fácil cultivo (DANTAS, 2010). Logo é viável que a cultura dessa oleaginosa apresente maior potencial para o desenvolvimento do programa nacional de biodiesel.

Entretanto, um dos principais problemas associados com a utilização do biodiesel de soja é a sua susceptibilidade aos processos oxidativos, como a auto-oxidação. A cadeia graxa do óleo possui hidrogênios alílicos e *bis*-alílicos, sítios mais reativos na etapa inicial da auto-oxidação.

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, o perfil graxo dos biodieseis segue a de seus óleos e gorduras de origem (ALBUQUERQUE, 2010, p. 4).

Contudo, o processo da auto-oxidação pode ser retardado, diminuindo as condições que contribuem para o seu aumento, como por exemplo, manter ao mínimo os níveis de

Sarah Soares Damasceno

energia (temperatura e luz), evitar a presença de traços de metais e impedir ao máximo o contato com oxigênio.

A oxidação do biodiesel produz vários compostos como aldeídos, cetonas, ácidos, peróxidos, polímeros, que modificam as propriedades do combustível comprometendo assim o funcionamento do motor. Desta forma a estabilidade oxidativa deve ser considerada como um parâmetro essencial no controle da propriedade do biodiesel (DANTAS *et al.*, 2011)

Como alternativa é possível minimizar a formação de radicais livres por meio de antioxidantes, os quais, em pequenas quantias, atuam interferindo nos processos de oxidação de lipídios (RAMALHO; JORGE, 2006). A literatura relata que compostos fenólicos são eficientes antioxidantes contra a deterioração oxidativa de ácidos graxos polinsaturados (SUN WATERHOUSE *et al.*, 2011).

Diversos trabalhos vêm sendo realizados com o intuito de avaliar a estabilidade à oxidação do biodiesel aditivado com antioxidantes (RODRIGUES *et al.*, 2009; JAIN, SHARMA, 2010; SANTOS *et al.*, 2011). Mais recentemente, Luo e colaboradores (2012), avaliaram o perfil oxidativo do biodiesel de soja aditivado com os antioxidantes fenólicos: ácidos caféico e ferúlico, através do método Rancimat, após a síntese do combustível. No entanto, há uma considerável mudança no que se refere à estabilidade oxidativa do combustível durante o seu ciclo de comercialização, sendo imprescindível o monitoramento do perfil oxidativo do biodiesel em função do tempo, garantindo dessa forma a eficiência do antioxidante, bem como atendendo aos parâmetros qualidade do combustível.

Baseado no fato de que o biodiesel derivado de óleos insaturados possui baixa estabilidade oxidativa e com intuito de contribuir na resolução desse problema, ácido caféico e ácido ferúlico apresentam-se promissoras, quanto à redução a susceptibilidade à oxidação durante o armazenamento e uso do combustível.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Este trabalho deve como proposta avaliar a atividade antioxidante dos ácidos caféico, ferúlico e TBHQ no controle do processo oxidativo do biodiesel etílico de soja, durante o armazenamento.

2.2. Objetivos específicos

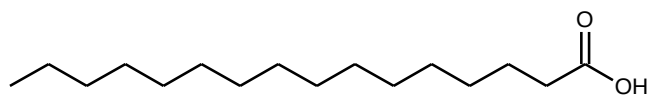
- Determinar as propriedades físico-químicas do óleo de soja;
- Sintetizar e determinar as propriedades físico-químicas o biodiesel etílico de soja;
- Determinar a composição em ésteres de ácidos graxo do biodiesel por cromatografia gasosa;
- Acompanhar a variação das propriedades físico-químicas relacionadas ao processo oxidativo do biodiesel etílico de soja durante o período de armazenamento, através dos índices de acidez, iodo e peróxido;
- Avaliar a atividade antioxidante do ácido caféico, ferúlico e TBHQ no processo oxidativo do biodiesel etílico de soja pelas técnicas aceleradas: Calorimetria Diferencial de Varredura Presurizada (P-DSC), rancimat e petroOXY;
- Determinar a variação dos teores do linolenato, linoleato e oleato de etila, durante o período de armazenamento, por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC);

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Óleos, gorduras e biodiesel

Os principais constituintes dos óleos e gorduras são ácidos graxos esterificados com glicerol, os triacilgliceróis. São compostos de cadeia alifática com grupo carboxílico presente na sua estrutura. Os sítios mais reativos da molécula de cadeia graxa são o grupo carboxila e ligações duplas. A sua classificação é denominada como saturados, monoinsaturados, polinsaturados e hidroxilados (DAMODARAN; FENNEMA; PARKIN, 2010).

Os ácidos graxos saturados formam uma série homóloga ($C_nH_{2n}O_2$) sendo considerados mais comuns os: mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), esteárico (C18:0) e o araquídico (C20:0). A estrutura do ácido palmítico é mostrada na Figura 1.

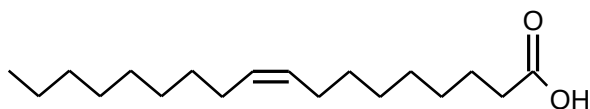


Ácido hexadecanóico

Ácido palmítico

Figura 1. Estrutura molecular do ácido palmítico.

Os ácidos graxos monoinsaturados formam uma série isóloga em relação aos saturados, mas homóloga entre si ($C_nH_{2n-2}O_2$), destacando-se os que possuem a insaturação *cis* na posição C-9, como o palmitoléico (C16:1) e o oléico (C18:1). A estrutura do ácido oléico é mostrada na Figura 2.

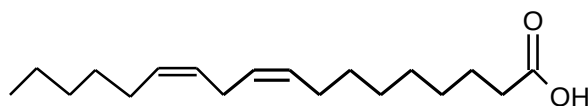


Ácido (Z)-octadec-9-óico

Ácido oléico

Figura 2. Estrutura molecular do ácido oléico.

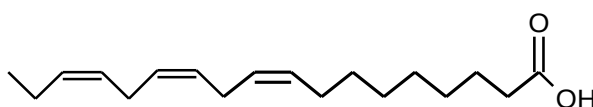
Em relação aos polinsaturados, destacam-se os que possuem as insaturações *cis* nas posições C-9, 12 - linoléico (C18: 2), e nas posições C-9,12,15 - linolênico (C18:3) também conhecidos como ômega 6 e ômega 3, respectivamente. A estrutura do ácido linoléico e linolênico é mostrada nas Figuras 3 e 4.



Ácido (Z,Z)- octadeca-9,12-dienóico

Ácido linoléico

Figura 3. Estrutura molecular do ácido linoléico.



Ácido(Z,Z,Z)-ocatadeca-9,12,15- trienóico

Ácido linolênico

Figura 4. Estrutura molecular do ácido linolênico.

A modificação do grupo funcional e centro insaturado dos ácidos graxos é a base para a utilização industrial de óleos e gorduras, tanto em produtos alimentícios, como em cosmético e biocombustíveis. Neste aspecto, o desenvolvimento esta dividido em três áreas: reações catalisadas por enzimas; química inovadora para funcionalizar a cadeia de carbono, levando a novos compostos; e “química verde”, processos que utilizam menos energia e recursos renováveis (SCHAICH, 2005).

As fontes de energia sustentável e renovável tornaram-se mais atraentes devido aos seus benefícios ambientais. Neste contexto, o biodiesel tem potencial em complementar ou substituir combustíveis convencionais derivados do petróleo. Entre as características mais relevantes destacam-se: (a) origem renovável, (b) sua combustão não aumenta o nível de CO₂ na atmosfera, (c) biodegradáveis, (d) não é inflamável em condições normais de manuseio, transporte e armazenamento, (e) produtos da combustão: CO, SO_x e hidrocarbonetos possuem baixo nível de emissão em relação ao diesel de petróleo, (f) elevado número de cetano, que

resulta em melhor ignição e maior poder de combustão, (g) viscosidade e lubricidade apropriada (SILVA *et al.*, 2008).

Além disso, o biodiesel possui excelente propriedade como combustível no motor a diesel, e pode ser usado em motores de ignição por compressão, com pouca ou nenhuma alteração, devido sua semelhança funcional com o combustível derivado do petróleo (DUPONT *et al.*, 2009).

Mais recentemente o uso de ésteres etílicos ou metílicos de ácido graxos (do inglês FAEE ou FAME) são conhecidos como biodiesel (DUPONT *et al.*, 2009). Os FAEE e FAME são obtidos pela reação dos triglicerídeos com alcoóis de cadeia pequena, como o etanol ou metanol, na presença de uma base ou ácido forte usado como catalisador, tal reação é denominada como reação de transesterificação (LUCENA *et al.*, 2008).

3.1.1 Biodiesel de soja

Uma importante classe de biocombustíveis são ésteres alquílicos de cadeia longa de origem vegetal e gordura animal, denominado biodiesel, sendo a principal fonte de óleo, representada atualmente pelo óleo de soja (NAIK *et al.*, 2011). O mercado brasileiro de agronegócio ocupa a segunda maior produção de soja a nível mundial, com espaço territorial de aproximadamente 22 milhões de hectares (QUINTELLA, *et al.*, 2009), logo é viável que essa cultura oleaginosa apresente maior potencial para o desenvolvimento imediato do programa nacional de biodiesel.

O perfil de ácido graxo correspondente à matéria prima na produção do biodiesel, influencia as propriedades do combustível. Haja vista, que no processo convencional de transesterificação 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 (ALBUQUERQUE, 2010).

Os principais componentes do óleo de soja são os ácidos graxos insaturados, especificamente os ácidos oléico, linoléico e linolênico. De acordo com a literatura, o teor de compostos insaturados, está diretamente correlacionado com processos oxidativos associado ao biodiesel. Fato este, que tem chamado a atenção de inúmeros pesquisadores, na tentativa de melhorar a qualidade do biodiesel, objetivando o aumento do tempo de estocagem sem que haja uma diminuição da qualidade (JAIN; SHARMA, 2010).

Sarah Soares Damasceno

Candeia e colaboradores (2011), avaliaram a estabilidade térmica e oxidativa do biodiesel de soja durante o processo de armazenamento, para ésteres metílicos e etílicos, através da calorimetria diferencial de varredura pressurizada (do inglês P-DSC) e viscosidade. Os resultados mostraram que a indução à oxidação pode ocorrer durante o armazenamento, diminuindo a estabilidade do biodiesel. Fato este evidenciado pelo aumento da viscosidade com a temperatura e tempo de estocagem. A análise por P-DSC mostrou que durante o armazenamento em condições ambientais, os valores de tempo de indução oxidativa a altas pressões (do inglês HPOIT) foram reduzidos, tanto para os ésteres metílicos como para ésteres etílicos.

Knothe (2006), acompanhou o processo de oxidação do biodiesel metílico de soja, através da variação de área de contato com oxigênio nas amostras analisadas. As condições de oxidação estudadas foram: aquecimento a 80 °C por um período de 168 h e aquecimento a 165 °C por 3 h. A oxidação do biodiesel foi acompanhada por ressonância nuclear magnética de hidrogênio (^1H -NMR), que é específica para determinação dos ácidos graxos de cadeias curtas e para as alterações nas ligações duplas, ambos decorrentes do processo de oxidação do biodiesel. Foi observado que a taxa de oxidação do biodiesel aumenta com o tempo e com o grau de exposição ao ar. Resultados de ^1H -NMR mostraram que o decréscimo da concentração em éster metílico coincide com o aumento da concentração dos ácidos graxos de cadeia curta, com o valor de acidez e com o valor da viscosidade cinemática.

A presença de ligações duplas na cadeia de ésteres de ácidos graxos confere maior reatividade da molécula com O_2 , especialmente quando a molécula está em contato com ar e água. Fato este, que desencadeia um processo complexo de oxidação procedido através de vários mecanismos (JAIN; SHARMA, 2010).

3.2 Processo oxidativo

A oxidação lipídica é favorecida pela temperatura, presença de luz, metais e outros iniciadores da oxidação (JAIN; SHARMA, 2010). O processo oxidativo é dividido em três etapas na ausência da combustão: auto-oxidação, foto-oxidação e oxidação térmica.

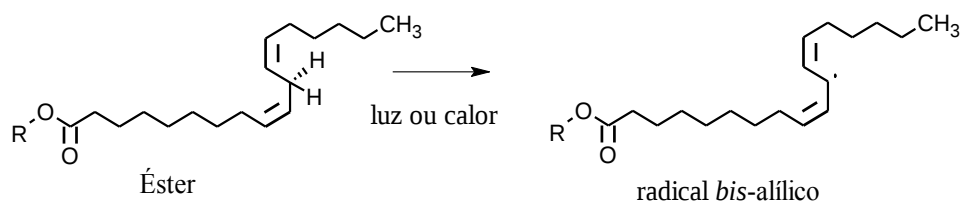
3.2.1 Auto-oxidação

A auto-oxidação é uma reação em cadeia, cujos iniciadores são radicais livres. Os

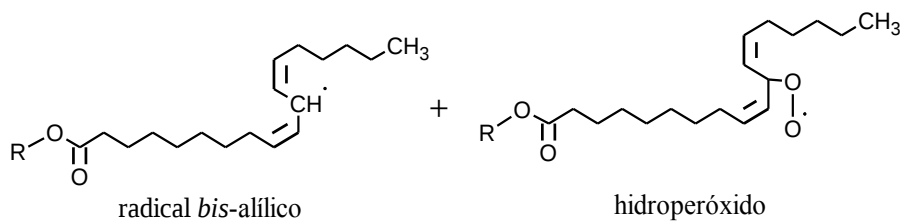
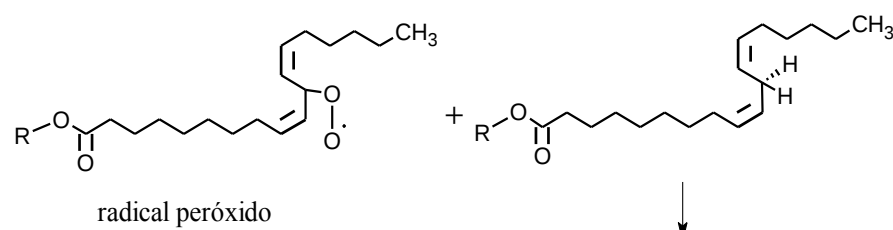
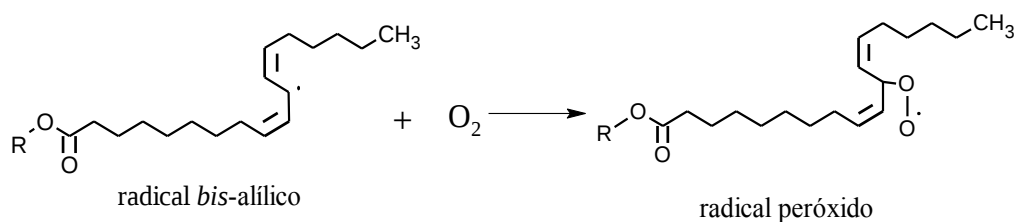
Sarah Soares Damasceno

estágios para esta etapa são iniciação, propagação e terminação, Figura 5.

Iniciação



Propagação



Término

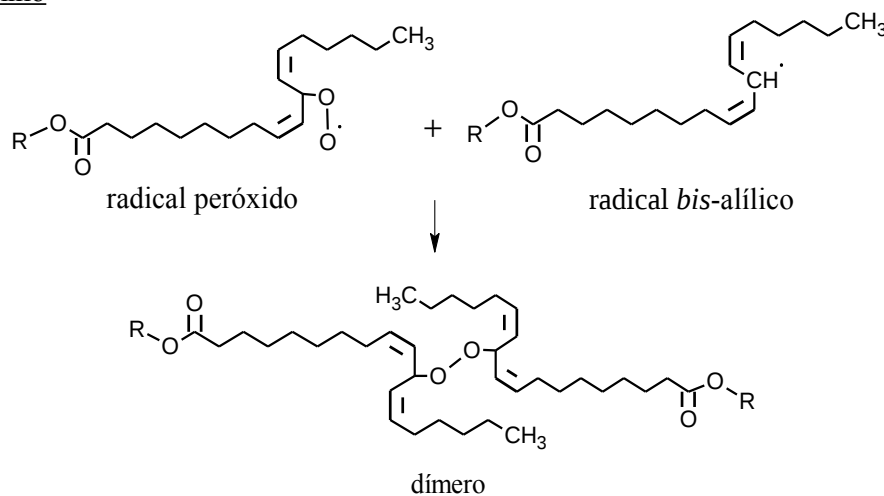


Figura 5. Mecanismo clássico da reação de auto-oxidação de ésteres alquílicos de ácidos graxos de cadeia longa. (R = CH₂CH₃). (adaptado de SCHAICH, 2005)

Sarah Soares Damasceno

Os radicais livres são formados pela remoção do hidrogênio do carbono alílico e/ou *bis*-alílico na molécula do éster, em condições favorecidas por luz ou calor e são os iniciadores da reação de auto-oxidação. A abstração do hidrogênio da espécie não radicalar é descrita no mecanismo clássico da propagação. Os radicais peróxidos, inicialmente formados transferem elétrons desemparelhados para moléculas de ésteres adjacentes, através da abstração do hidrogênio de uma posição alílica ou um hidroperóxido, o processo se repete indefinidamente, até que a cadeia seja interceptada, porém a literatura afirma que este processo de transferência de hidrogênio é lento e seletivo, abstraindo somente hidrogênios com baixas energias de ligação. Dessa forma, outras reações podem ocorrer tais como rearranjo/ciclização, adição, reação de cisão e decomposição de peróxido (SCHAICH, 2005).

A reação de ciclização ocorre quando radicais peróxidos emparelham seus elétrons pela adição à ligação dupla da cadeia central, formando produtos cíclicos. Esta adição gera um segundo radical peróxido (nova posição), o qual abstrai hidrogênio a partir de uma molécula vizinha, para propagar a cadeia. O mecanismo desta reação é ilustrado na Figura 6 para o ácido linolênico.

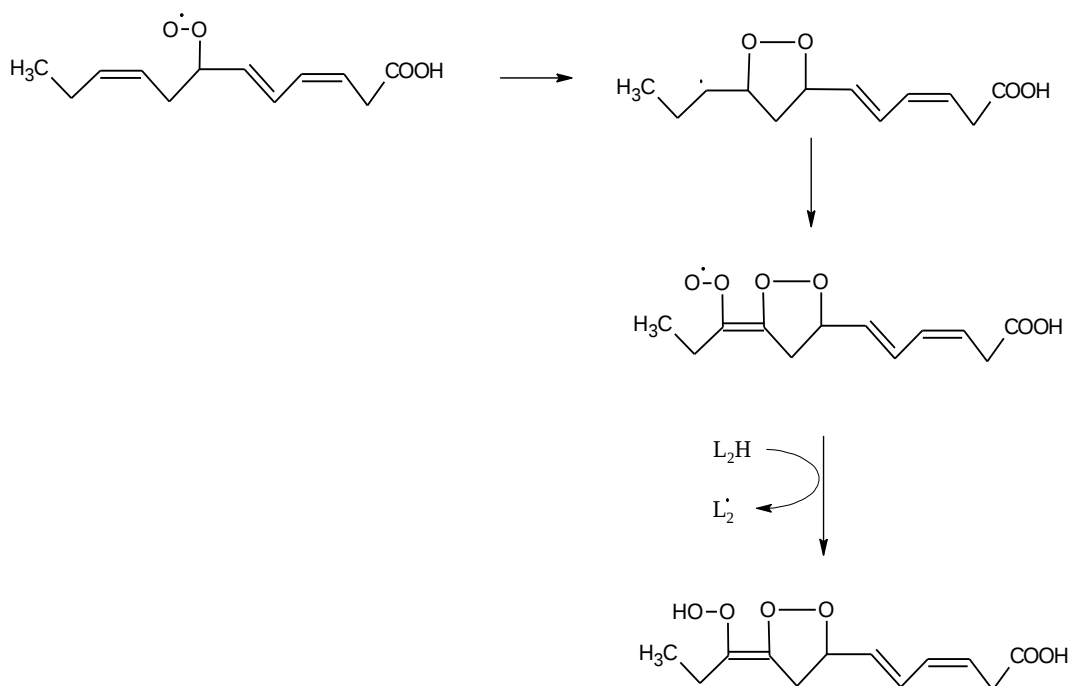


Figura 6. Mecanismo de rearranjo na etapa de propagação da auto-oxidação para a molécula de ácido linolênico (adaptado de SCHAICH, 2005). A ciclização requer a presença da ligação com configuração *cis* a um hidroperóxido, sendo o rearranjo do radical na posição interna considerado mais rápido do que a oxidação secundária de hidroperóxido em qualquer posição externa. Cerca de 25 % de ácido linolênico é susceptível à formação de peróxido cíclico (SCHAICH, 2005).

A reação de adição do radical peróxido é bastante específica, sendo a mesma favorável, apenas em condições limitadas como em baixa temperatura, solventes apróticos e ligações duplas conjugadas. A propagação através da reação de adição do radical peróxido à ligação dupla forma tanto produtos nanoméricos como dímeros ou polímeros (NAIK *et al.*, 2011).

A reação de cisão implica na mudança de distribuição de isômero a elevadas temperaturas, consequentemente há alteração dos produtos da reação. Na decomposição de peróxido, o indicativo mais provável de que ocorre a reação é a promoção de íons metálicos que variam seu estado de oxidação, podendo esta ser também térmica.

Na etapa de terminação, radicais livres formam produtos não radicalares pela recombinação de radicais. É importante ressaltar que este mecanismo não ocorre de maneira aleatória, sendo a temperatura e pressão de oxigênio determinante para a recombinação de radicais.

3.2.2 Foto-oxidação

A luz na presença de oxigênio promove a oxidação de ácidos graxos insaturados. O mecanismo de fotoxidacão de gorduras insaturadas é promovido essencialmente pela radiação UV em presença de fotossensibilizadores (clorofila, mioglobina, riboflavina e outros) que absorvem a energia luminosa de comprimento de onda na faixa do visível e a transferem para o oxigênio tripleto ($^3\text{O}_2$), gerando o estado singlete ($^1\text{O}_2$) (RAMALHO; JORGE, 2006). A reação com o oxigênio singlete é 1500 vezes mais rápida que a reação com oxigênio no estado fundamental, e a sua reação com moléculas lipídicas forma hidroperóxidos com deslocamento da insaturação e mudança de configuração, de Z para E (Figura 7) (ALBUQUERQUE, 2010).

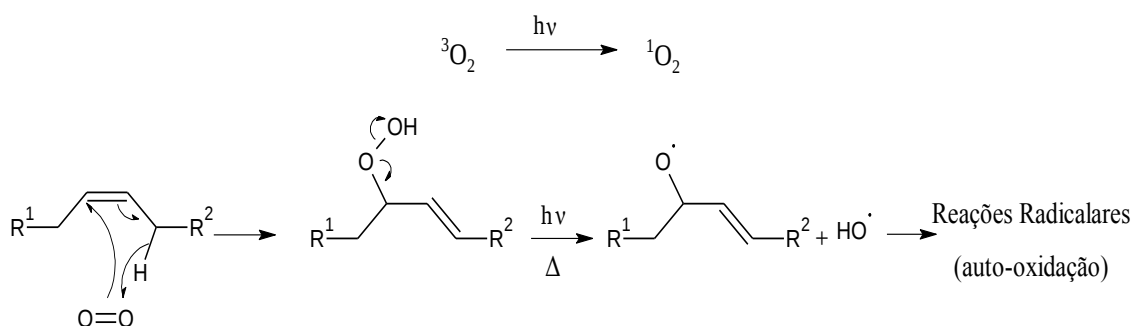


Figura 7. Mecanismo de reação entre o oxigênio singlete e olefina, formando produtos que podem iniciar a auto-oxidação.

3.2.3 Oxidação térmica

A oxidação térmica é definida como a taxa de reação de oxidação, a qual aumenta a massa do óleo e gordura, devido a sua exposição a altas temperaturas. Em temperaturas suficientemente elevadas estrutura de olefinas poli-insaturadas sofre isomerização, para estruturas conjugadas mais estáveis. Uma vez iniciada a isomerização, o grupo de dieno conjugado a partir de uma cadeia de ácido graxo pode reagir com um único grupo de olefina, através de outra cadeia de ácido graxo formando anel ciclohexano. Tal reação é denominada de reação de Diels Alder, os produtos formados são chamados de dímeros (JAIN; SHARMA, 2010). A reação é mostrada na Figura 8.

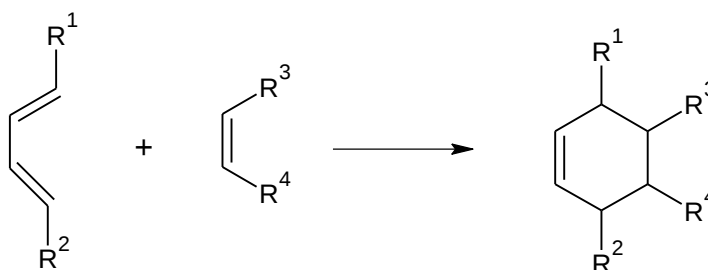


Figura 8. Reação de Diels Alder. (JAIN; SHARMA, 2010)

Todas as três formas de oxidação de cadeias graxas são importantes e o biodiesel está susceptível a elas em alguma etapa da sua produção e armazenamento, podendo iniciar inclusive na matéria prima (óleo ou gordura animal). Entretanto, o mecanismo com mais etapas e mais presente no armazenamento de olefinas em condições padrão é o da auto-oxidação.

3.3 Análise térmica e oxidativa

3.3.1 Princípios

Diversos métodos e técnicas aceleradas são usados para avaliar a resistência e o grau de oxidação do biodiesel. Entre os métodos mais utilizados na análise de produtos primários e secundários da oxidação tem-se: o método Rancimat (FARHOOSH, 2007), a calorimetria diferencial de varredura pressurizada (P-DSC) (CANDEIA *et al.*, 2011) e o PetrOXY (ARAÚJO *et al.*, 2009).

Dentre os métodos citados na investigação da estabilidade oxidativa, o método rancimat é adotado pela Agência Nacional de Petróleo Gás Natural e Biocombustível (ANP). O método rancimat baseia-se na determinação automática, do tempo decorrido para alteração da taxa máxima de oxidação, medida através do aumento da condutividade da água deionizada EN-14112 (FARHOOSH, 2007). O tempo de indução é determinado pelo ponto de inflexão da curva de condutividade (JAIN; SHARMA, 2010).

Além do método rancimat, outros métodos têm sido reportados na literatura (JAIN; SHARMA, 2010) para avaliar a resistência à oxidação. Entre estes, o método petroOXY tem recebido grande ênfase em trabalhos relatados por pesquisadores (ARAÚJO *et al.*, 2009). O método experimental mede a estabilidade à oxidação, com base no período de indução (PI). O PI é o tempo entre o início da análise e a detecção da redução específica da pressão, a qual indica que foi superada a resistência à oxidação.

Na Figura 9 está representada a curva de pressão em função o tempo na análise petroOXY, que ocorre em três etapas:

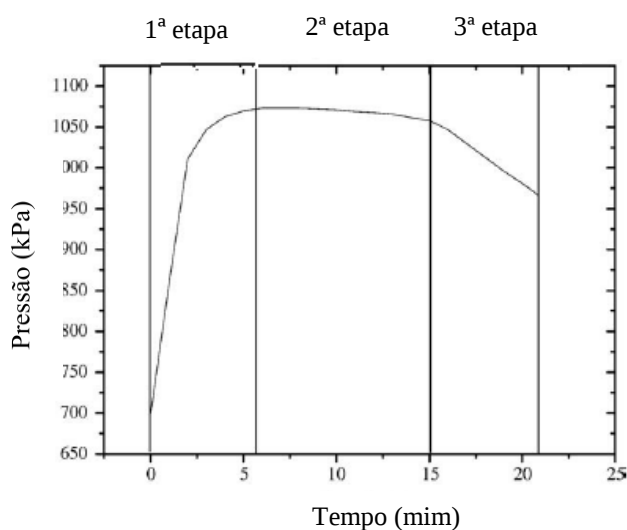


Figura 9. Representação esquemática da variação de pressão do teste oxidativo petroOXY. (ARAÚJO *et al.*, 2009). 1ª etapa de 0 a 5 minutos; 2ª etapa de 5 a 15 minutos; 3ª de 5 a 20 minutos.

A primeira etapa começa quando a amostra dentro de uma câmara é pressurizada a 700 kPa de oxigênio. A pressão dentro da câmara aumenta até um valor máximo, correspondente a natureza da amostra. A partir de então, tem-se início a segunda etapa, a qual corresponde ao consumo de oxigênio pela amostra. A terceira etapa inicia-se quando um ponto de inflexão apresenta uma queda de pressão considerável. A etapa termina quando a diferença de 10% na

pressão é observada em relação ao valor de pressão máxima é atingida (ARAÚJO *et al.*, 2009).

Além das técnicas aceleradas já mencionadas, outra análise de relevância para determinação da resistência à oxidação é a técnica P-DSC. Semelhante a técnica calorimetria diferencial de varredura (DSC), porém sob alta pressão, P-DSC pode ser definida, como uma técnica que mede as temperaturas e fluxo de calor associados com as transições dos materiais em função da temperatura e de tempo. Tais medidas fornecem informações qualitativas e quantitativas sobre mudanças físicas e químicas, como: oxidação, estabilidade térmica, cinética das reações, e outras, envolvendo processos endotérmicos, exotérmicos ou mudança na capacidade calorífica (MOTHÉ; AZEVEDO, 2002).

Segundo reportado por Kamal-Eldin (2006), a solubilidade do oxigênio é comprometida com o aumento da temperatura. Cerca de 25% do oxigênio diminui, para cada 10 °C aumentados na temperatura. Logo, a significativa vantagem desta técnica em relação às demais, consiste no aumento da concentração de oxigênio na célula de pressão, possibilitando a aceleração da reação em temperaturas menores, além da pequena quantidade de amostra utilizada na análise.

Os métodos acelerados constituem técnicas analíticas de importância singular no estudo da estabilidade oxidativa, haja vista, que sua aplicação acarreta em 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 com a evolução do processo oxidativo em condições reais. Assim sendo há a necessidade de investigar tais processos através de outros métodos analíticos, a exemplo a cromatografia, que é hoje uma das principais e a mais empregada técnica de análise química instrumental. Possui atualmente, um alcance que ultrapassa em muito as barreiras da química, com aplicações em áreas como alimentos, farmácia, bioquímica entre outras.

3.4 Cromatografia líquida de alta eficiência

3.4.1. Princípios

A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) é uma técnica de separação que, em menos de trinta anos, passou a ser uma das técnicas analíticas mais utilizadas para fins

qualitativos e quantitativos. As razões para este crescimento estão relacionadas à possibilidade de separar espécies não voláteis e termicamente instáveis, bem como a sua adaptabilidade para determinações quantitativas com adequada sensibilidade (TONHI *et al.*, 2001).

A técnica cromatográfica consiste em um processo físico utilizado na separação dos componentes de uma mistura. A base para esta separação é a distribuição dos analitos entre duas fases: uma fase estacionária (FE) e outra fase móvel (FM).

A cromatografia de fase reversa é constituída por fase estacionária não polar e fase móvel polar, a FM é bombeada sob alta pressão a uma vazão controlada. Uma pequena quantidade da amostra é introduzida por meio de uma válvula de injeção, sendo arrastada pela FM através da coluna e do detector. A interação entre o soluto e FE pode ocorrer de várias maneiras, através de ligação de hidrogênio, forças de wan der Waals, atrações eletrostáticas, entre outras (VIGNA, 2004).

A fase estacionária encontra-se acondicionada dentro da coluna através da qual a fase móvel, denominada também de eluente, flui continuamente. As moléculas da amostra distribuir-se-ão entre eluente e fase estacionária. Os analitos que apresentarem maior interação com a fase estacionária irão permanecer menos tempo na fase móvel e, como consequência serão arrastados mais lentamente através da coluna. A Figura 10 ilustra o processo de separação em uma coluna cromatográfica.

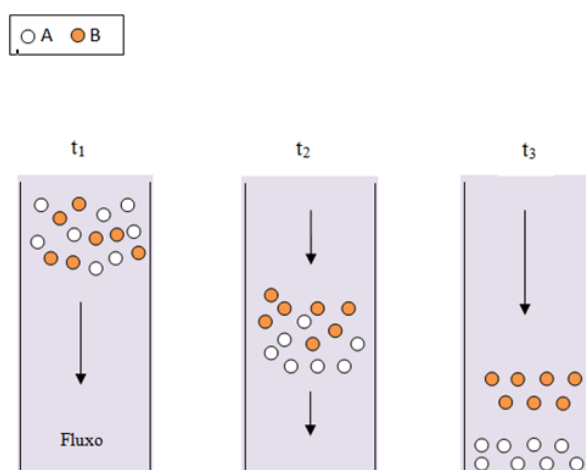


Figura 10. Representação esquemática do processo de separação de dois compostos, denominados A e B, em uma coluna cromatográfica. (adaptado de LANÇAS, 2009).

No tempo t_1 , as moléculas dos compostos A e B entram na coluna na forma de uma mistura. No tempo t_2 , as moléculas de B por possuírem maior interação com a fase estacionária, começam a serem retardadas em relação às moléculas do analito A. Já no tempo t_3 , as moléculas de A, completamente separadas de B, começam a deixar a coluna. A separação é possível devido às diferenças entre os coeficientes de distribuição da amostra, FM e FE. Após a separação, os componentes do eluato (FM e componente da amostra) podem ser identificados por meio de detectores, colocados na saída da coluna e que são utilizados para identificar e quantificar os componentes da amostra (LANÇAS, 2009).

3.5 Compostos fenólicos

Conhecidos como metabólitos secundários de plantas, os compostos fenólicos são largamente distribuídos no reino vegetal. O termo fenólico engloba aproximadamente 8.000 compostos de ocorrência natural, os quais possuem uma característica estrutural comum. Um fenol, um anel aromático tendo pelo menos uma hidroxila substituinte.

De acordo com a literatura, efeitos benéficos dos compostos fenólicos à saúde humana estão associados à propriedade antioxidante (FERNANDES, *et al.*, 2009). Estes compostos são inseridos na dieta humana, através da ingestão de vegetais, cereais, frutas, ervas, legumes e também de seus derivados (chá, cidra, óleo e vinho tinto) (GAVRILOVA *et al.*, 2011).

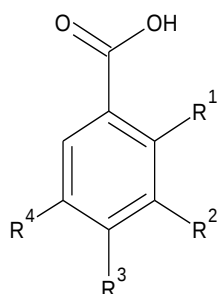
Além da ação antioxidante, os compostos fenólicos exibem significativa propriedade anticarcinogênica, antiinflamatória, antimicrobiana, antitrombótica, cardioprotetora e vasodilatadora, (FERRERES *et al.*, 2011). Compostos fenólicos podem ser classificados em duas grandes subclasses: ácidos fenólicos e flavonóides (TAPIERO *et al.*, 2002).

3.6 Ácidos fenólicos

A maior classe de ácidos fenólicos está representada pelos ácidos hidroxicinâmicos. O composto mais representativo da classe é o ácido 3-(3,4-dihidroxifenil) 2-propenóico (ácido caféico), a ocorrência natural se dá principalmente como um éster, chamado de ácido clorogênico (TAPIERO *et al.*, 2002).

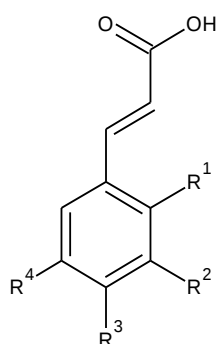
Os ácidos fenólicos são divididos em três grupos. O primeiro é composto pelos ácidos benzóicos, que possuem sete átomos de carbono e são os ácidos fenólicos mais simples encontrados na natureza; suas fórmulas gerais e denominações estão representadas na Figura 11. O segundo é formado pelos ácidos cinâmicos, que possuem nove átomos de carbono, Sarah Soares Damasceno

sendo sete os mais comumente encontrados no reino vegetal (Figura 12). O terceiro grupo, as cumarinas são derivadas do ácido cinâmico por ciclização da cadeia lateral do ácido *o*-cumárico, Figura 13 (SOARES, 2002, p. 73).



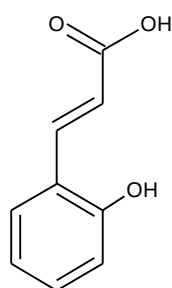
- 1- Ácido salicílico: $R^1 = \text{OH}$; $R^2 = R^3 = R^4 = \text{H}$
- 2- Ácido *p*-hidroxibenzoico: $R^3 = \text{OH}$; $R^1 = R^2 = R^4 = \text{H}$
- 3- Ácido protocatequínico: $R^2 = R^3 = \text{OH}$; $R^1 = R^4 = \text{H}$
- 4- Ácido gentístico: $R^1 = R^4 = \text{OH}$; $R^2 = R^3 = \text{H}$
- 5- Ácido vanílico: $R^2 = \text{OCH}_3$; $R^3 = \text{OH}$; $R^1 = R^4 = \text{H}$
- 6- Ácido gálico: $R^1 = \text{H}$; $R^2 = R^3 = R^4 = \text{OH}$
- 7- Ácido Sirínico: $R^1 = \text{H}$; $R^2 = R^4 = \text{OCH}_3$; $R^3 = \text{OH}$

Figura 11. Estrutura química dos principais dos ácidos benzóicos.

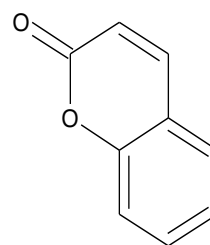


- 8- Ácido cinâmico: $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = \text{H}$
- 9- Ácido *o*-cumárico: $R^1 = \text{OH}$; $R^2 = R^3 = R^4 = \text{H}$
- 10- Ácido *m*-cumárico: $R^2 = \text{OH}$; $R^1 = R^3 = R^4 = \text{H}$
- 11- Ácido *p*-cumárico: $R^3 = \text{OH}$; $R^1 = R^2 = R^4 = \text{H}$
- 12- Ácido caféico: $R^2 = R^3 = \text{OH}$; $R^1 = R^4 = \text{H}$
- 13- Ácido ferúlico: $R^3 = \text{OH}$; $R^4 = \text{OCH}_3$; $R^1 = R^2 = \text{H}$
- 14- Ácido sinápico: $R^2 = R^4 = \text{OCH}_3$; $R^3 = \text{OH}$; $R^1 = \text{H}$

Figura 12. Estrutura química dos principais ácidos cinâmicos.



15- Ácido *o*-cumárico



16- Cumarina

Figura 13. Estrutura química das cumarinas.

Os mecanismos referentes à atividade antioxidante dos fenóis mostram que as moléculas atuam como agentes redutores, compostos que bloqueiam os radicais livres e/ou agentes quelantes de íons metálicos. A quelação retarda a reação de oxidação ou polimerização, catalisada pelos íons metálicos, e também pode inibir a atividade de enzimas oxidantes por doação de elétrons e quelação do oxigênio singleto (KOWALSKI, 2010).

Embora existam vários mecanismos referentes a esta atividade antioxidante, o mecanismo predominante é elucidado pela doação do átomo de hidrogênio fenólico ao radical livre, levando a formação de um radical pouco reativo na terminação, Figura 14.

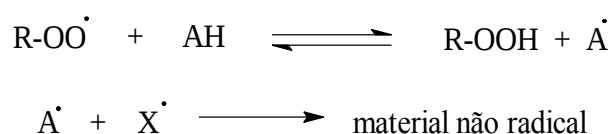


Figura 14. Mecanismo de doação do hidrogênio fenólico a um radical livre. (MASUDA, 2008).

Onde R é a substância à oxidação, R-OO· é o radical peróxido de R, AH é o antioxidante, A· é o radical antioxidante, X· é outra espécie de radical incluindo a mesma espécie do radical A. Embora a estrutura básica permaneça a mesma nos grupos de ácidos fenólicos (benzóicos e cinâmicos), os números e as posições do grupo hidroxila no anel aromático variam (Figuras 11 e 12) e, portanto afetam a estabilidade do anel aromático e sua habilidade radical-quelante. Logo diferentes ácidos têm, contudo diferentes atividades antioxidantes (ROBBINS, 2003; CHALAS *et al.*, 2001).

Associado a isso, está o crescente interesse na identificação e no entendimento da função de compostos fenólicos como minimizadores de processos degenerativos e oxidativos, demonstrado em trabalhos da literatura (PAZDZIOCH-CZOCHRA; WIDENSKA, 2002).

A relação estrutura-atividade dos antioxidantes ácidos caféico e dihidrocaféico foi investigada através da teoria do funcional da densidade (DFT). Segundo Bakalbassis e colaboradores (2003) a maior atividade antioxidante do ácido caféico foi atribuída à menor diferença de valor do calor de formação (ΔHOF). O ácido dihidrocaféico apresentou menor atividade antioxidante devido ao maior valor de ΔHOF e limitada deslocalização de elétrons em relação ao ácido caféico.

Soares (2002), descreveu a química dos ácidos fenólicos e sua utilização como

antioxidantes em alimentos e em sistemas biológicos. Em investigações de ácidos fenólicos presentes em grãos de soja, farinha de soja desengordurada, concentrado e isolado protéico de soja, quatro ácidos cinâmicos apresentaram significativa atividade antioxidante. São eles: ácido clorogênico, caféico, *p*-cumárico e ferúlico.

Ramalho e Jorge (2006), constataram as diferenças de potenciais existentes entre alguns ácidos fenólicos. Uma comparação quantitativa do comportamento cinético da inibição oxidativa foi realizada utilizando os ácidos *p*-hidroxibenzóico, vanílico, sirínico, e 3,4-diidroxibenzóico e ácidos *p*-cumárico, ferúlico, sinápico e caféico. A atividade antioxidante dos compostos estudados apresentou a seguinte ordem: ácido caféico > 3,4-diidroxibenzóico > sinápico > sirínico > ferúlico > *p*-cumárico > vanílico. O maior potencial antioxidante do ácido caféico e o 3,4 dihidroxibenzóico foi atribuído a presença das hidroxilas nas posições [3 e 4].

3.7 Ácido caféico

Ácido 3-(3,4-dihidroxifenil) 2-propenóico possui ocorrência natural em muitas frutas e vegetais, tais como: ameixa, maçã, uvas e tomates, juntamente com outras moléculas polifenólicas. Pode ser obtido sinteticamente a partir da L-fenilalanina, L-tirosina, ou isolado de plantas, a exemplo, *Alsophila spinulosa*, uma pteridófito originária da China (CHIANG; LO; LU, 1994)

O ácido caféico (AC) desempenha um papel importante na química do solo, como transportador de metais iônicos (CORNARD; LAPOUGE, 2004). Os estudos acerca do seu papel biológico incluem a prevenção do câncer de pele (KANG *et al.*, 2009), ação antitumoral contra o câncer de cólon (OLTHOF *et al.*, 2001), bloqueio seletivo de leucotrienos, que são componentes envolvidos em doenças imunorreguladoras (REINKE *et al.*, 2002), mecanismo de defesa de plantas (RIABI *et al.*, 2009) e atividade antioxidante (SUN WATERHOUSE, 2011).

A capacidade do ácido caféico em minimizar processos oxidativos tem tido grande ênfase em trabalhos da literatura:

Iglesias e colaboradores (2009), estudaram a capacidade antioxidante do ácido caféico e o mecanismo sinérgico com o ácido ascórbico e α -tocoferol em músculo de peixe. A adição do AC em músculo de peixe retardou tanto a degradação endógena do α -tocoferol como a propagação da oxidação lipídica, medidos através do valor de peróxido e substâncias

Sarah Soares Damasceno

reativas ao ácido tiobarbitúrio, com efeitos crescentes com o aumento de 55,5- 555,1 $\mu\text{mol/Kg}$ de ácido caféico.

Kowalski (2010), avaliou a influência de compostos fenólicos (quercetina, ácido caféico, ácido protocatequínico) na inibição de mudanças na concentração do ácido linoléico em óleos de: milho, semente de uva, amendoim, canola, gergelim e soja. Aquecidos em temperatura de 90 °C por um período total de 120 horas. Resultados mostraram a capacidade do AC em inibir mudanças na concentração do ácido linoléico, presente no óleo de uva com valores de 4,5 % para 15,7% de inibição no período e temperatura mencionada.

Sun-Waterhouse *et al.* (2011), investigaram o efeito da adição do ácido caféico (AC) e *p*-cumárico (pCA) na estabilidade ao armazenamento dos óleos de abacate e coco. Os óleos aditivados e o controle (sem aditivo) foram submetidos a temperatura de 20 °C e 60 °C por 50 dias. Resultados mostraram que o AC preservou a concentração de ácido graxos monoinsaturados melhor que o pCA, na determinação da concentração por cromatografia gasosa do óleo de abacate. O armazenamento a 60 °C acelerou a oxidação dos óleos e o AC e pCA ajudou a preservar os óleos de abacate e coco em diferentes graus.

Outra abordagem interessante foi relatada por Arrua, Strumia e Nazareno (2009), no desenvolvimento de filmes poliméricos com propriedades antioxidantes. O ácido caféico ligado a superfície de filme poliprolileno foi capaz de oferecer atividade protetora as amostras de alimentos. Os filmes sintetizados foram caracterizados por Folin-Ciocalteu medindo os grupos fenólicos disponíveis, como equivalentes de ácido caféico ligado a superfície. A eficiência antioxidante dos polímeros modificados foi avaliada por métodos espectroscópicos e o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH).

Santos e colaboradores (2011), avaliaram a atividade antioxidante do AC, como aditivo ao biodiesel de soja dopado com metais. O antioxidante *terc*-butilhidroquinona (TBHQ) e o butil-hidroxitolueno (BHA) também foram utilizados no estudo para comparação de suas atividades. Os resultados mostraram a maior eficácia do antioxidante AC, quando comparado com o TBHQ e BHA, através do método Rancimat. Sendo esta maior atividade associada a dois mecanismos. Como antioxidante primário e por quelação com metais de transição.

3.8 Ácido ferúlico

O ácido 4-hidroxi-3-metoxicinâmico é um composto de ocorrência natural, presente na

Sarah Soares Damasceno

linhaça (CHOO; BIRCH, 2009), trigo, milho, aveia e especialmente rico na forma de éster em farelos de arroz. Concentrado na parede celular do revestimento exterior da semente (ZUPFER, J. M. *et al.*, 1998) e produzido através da biossíntese de fenilpropanóide (DU *et al.*, 2009).

Os estudos indicam consistentemente que o ácido ferúlico (AF) está entre os fatores mais inibidores à degradabilidade da parede celular de polissacarídeos (DU *et al.*, 2009). Na forma livre o AF é um adstringente e pode, conseqüentemente, atuar como inseticida em insetos e animais.

A atividade antioxidante do ácido ferúlico também tem sido relatada na literatura. Em geral, o efeito inibidor do antioxidante sobre a oxidação lipídica é influenciado pelo estado físico do substrato lipídico, e vários sistemas de avaliação usando diferentes condições físicas. (KIKUZAKI *et al.*, 2002).

Recentemente os ácidos ferúlico e caféico foram utilizados como aditivo antioxidante ao biodiesel de soja (WANG *et al.*, 2011). Além dos ácidos hidroxicinâmicos outros compostos fenólicos e antioxidantes sintéticos (BHT, BHA e α -tocoferol) foram avaliados quanto a sua ação antioxidante, nas concentrações de 500, 1.000, 1.500 e 2.000 ppm, através método Rancimat. O ácido ferúlico apresentou melhor resultados na concentração de 2.000 ppm, enquanto o ácido caféico mostrou melhor eficácia na concentração de 1.500 ppm.

3.8.1 Aspectos estruturais AC e AF

No que se refere à atividade antioxidante do AC e AF, a sua estrutura molecular está inteiramente correlacionada, Figura 15. O ácido caféico possui duas hidroxilas fenólicas na posição 3 e 4 do anel benzênico e a dupla ligação em conjugação com o grupo carboxílico. O ácido ferúlico possui estrutura semelhante ao AC, com grupo metoxila na posição meta do anel benzênico, este fato pode está relacionado a menor atividade do AF em relação ao AC, como relatado na literatura (KIKUZAKI *et al.*, 2002).

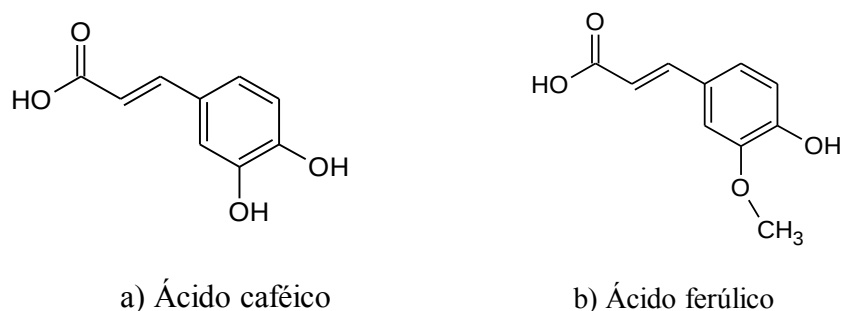


Figura 15. Estrutura molecular do ácido caféico e ácido ferúlico.

Estudos conformacionais sugerem uma preferência por uma geometria planar em um sistema conjugado. Segundo a análise conformacional, por método *ab initio* (otimização da geometria da molécula e cálculo de suas frequências vibracionais, por meio de métodos computacionais) esta planaridade é previsível, haja vista, que a deslocalização de elétrons é favorecida através de um sistema π expandido (MAURÍCIO, 2006).

Conforme reportado por Maurício (2006), a relação estrutura-atividade não está somente correlacionada ao grupo catecol, o papel do grupo etilênico e carboxílico também devem ser avaliados. Teoricamente a ligação dupla seria importante para a atividade antioxidante, devido a estabilização do radical fenoxil por conjugação, como mencionado. Porém, o seu análogo, sem a ligação dupla, pode efetuar livre rotação, aumentando a eficiência estérica da molécula em formar quelatos metálicos.

3.9 Antioxidantes sintéticos

Dentre os antioxidantes sintéticos mais utilizados na indústria, destacam-se: butil-hidroxi-anisol, butil-hidroxitolueno, propil galato e terc-butil-hidroquinona. A estrutura desses compostos (Figura 16) permite a doação de um próton a uma radical livre, interferindo no mecanismo de oxidação lipídica. Os radicais fenóis formados são estabilizados sem promover ou propagar reações de oxidação (RAMALHO; JORGE, 2006).

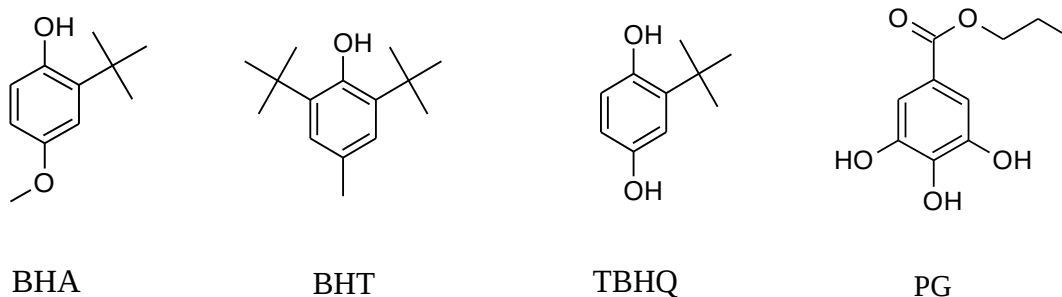


Figura 16. Estrutura química dos antioxidantes sintéticos, butil-hidroxi-anisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), propil galato (PG) e terc-butil-hidroquinona (TBHQ).

O TBHQ é considerado, em geral, mais eficaz em óleos vegetais que BHA ou BHT, em relação à gordura animal, é tão efetivo quanto o BHA e mais efetivo que o BHT ou o PG (RAMALHO; JORGE, 2006).

Maia e colaboradores (2011), avaliaram a estabilidade do biodiesel de soja quando aditivados com BHA, BHT e TBHQ. Os resultados mostraram que os três oxidantes empregados apresentaram período de indução acima de 6 h, a 110 °C pelo método Rancimat e o BHA e TBHQ apresentaram maior eficiência de proteção.

Ferrari e Souza (2009), estudaram a atividade dos antioxidantes BHA, BHT e TBHQ no biodiesel de girrasol. O estudo foi acompanhado pelo teste Rancimat, espectroscopia na região do ultravioleta visível e índice de iodo. A ordem de atividade foi TBHQ > BHT > BHA.

A literatura mostra vários estudos relacionados ao uso do TBHQ em biodiesel de soja, verificando a maior capacidade em retardar o processo oxidativo em relação aos demais antioxidantes sintéticos (TANG *et al.*, 2009; LIANG *et al.*, 2006; KNOTHE, 2007).

4. EXPERIMENTAL

Todos os experimentos e análises foram realizados no Laboratório de Combustíveis e Materiais (LACOM), no Centro de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

4.1 Antioxidantes

4.1.1. *Obtenção do ácido caféico, ácido ferúlico e TBHQ*

Os ácidos caféico, ferúlico e TBH todos com grau de pureza maior que 99,8%, foram adquiridos comercialmente padrões Sigma-Aldrich e utilizados como aditivos ao biodiesel etílico de soja.

4.1.2 *Estudo térmico*

As curvas termogravimétricas, no modo não isotérmicas foram obtidas em um analisador térmico da Shimadzu, Simultaneous DTA-TG, modelo DTG-60 H, em atmosfera de ar sintético, na razão de aquecimento de $20\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, com aproximadamente 10 mg de amostra, no intervalo de temperatura de 25-1.000 $^{\circ}\text{C}$. Foram obtidas simultaneamente as curvas de análise térmica diferencial (DTA).

4.2 Óleo de soja

4.2.1 *Obtenção*

O óleo de soja refinado, sem aditivos da marca lisa, foi obtido comercialmente.

4.2.2 *Caracterização físico-química*

O óleo de soja foi caracterizado pelos seguintes parâmetros físico-químicos e métodos.

4.2.2.1. Índice de acidez

O método NBR 11115 da ABNT foi utilizado para a determinação do índice de acidez (IA). Uma massa de 5 g da amostra foi medida em um erlenmeyer e adicionou-se 25 mL de etanol para solubilizar a amostra de óleo. Em seguida, foram adicionadas 2 gotas do indicador fenolftaleína e titulou-se com solução de KOH 0,1 mol L⁻¹ até atingir a coloração rósea. Uma prova em branco foi realizada nas mesmas condições descritas. O IA foi calculado de acordo com a Equação 1.

$$IA = \frac{(V_A - V_B) \times M \times 56,1}{m \text{ da amostra (g)}} \quad \text{Equação 1}$$

Em que: IA é o índice de acidez; M é a concentração da solução de KOH (mol L⁻¹); V_A é o volume de KOH gasto na titulação da amostra (mL); V_B é o volume de KOH gasto na titulação do branco (mL); m é a massa da amostra (g) e 56,1 é a massa molecular de KOH.

4.2.2.2. Índice de iodo

O índice de iodo foi determinado conforme a metodologia Cd 1-25 da AOCS. Uma massa de 0,25 g do óleo foi medida em um erlenmeyer de 500 mL, seguido da adição de 10 mL de cicloexano. A esta mistura adicionou-se 25 mL de solução de Wijs e, com o erlenmeyer fechado, agitou-se cuidadosamente com movimento de rotação para homogeneizar. Deixou-se em repouso ao abrigo da luz e à temperatura ambiente por 30 minutos. Adicionou-se 10 mL da solução de iodeto de potássio a 15% e 100 mL de água recentemente fervida e fria. Titulou-se com tiosulfato de sódio 0,1 mol L⁻¹ até o aparecimento de uma coloração amarela. Adicionou-se 1 mL de solução indicadora de amido 1 % e continuou a titulação até o completo desaparecimento da cor azul. Uma prova em branco foi realizada nas mesmas condições descritas. O índice de iodo foi calculado de acordo com a Equação 2

$$II = \frac{(V_B - V_A) \text{ mL} \times M \text{ do Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times fc}{m \text{ da amostra (g)}} \quad \text{Equação 2}$$

Em que: V_B é o volume gasto na titulação do branco (mL); V_A é o volume gasto na titulação da amostra (mL); m é a massa da amostra (g); M é a concentração da solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (mol L^{-1}); e fc é o fator de correção.

4.2.2.3. Índice de peróxido

O índice de peróxido foi determinado conforme a metodologia Cd 8-53 da AOCS. Para determinar o índice de peróxido foram dissolvidas 5 g das amostras de óleo em 30 mL de uma solução de ácido acético-clorofórmio (3:2 v/v), seguida da adição de 0,5 mL de solução saturada de iodeto de potássio. A mistura foi deixada em repouso por exatamente um minuto e em seguida foram adicionados 30 mL de água recém fervida e 0,5 mL de solução de amido a 1 %. O iodo liberado foi titulado com solução de tiosulfato de sódio 0,01 N, até o desaparecimento da coloração azulada. Uma prova em branco foi realizada nas mesmas condições descritas. Os cálculos foram feitos a partir da Equação 3.

$$IP = \frac{N \times (V_A - V_B) \times 1000}{m \text{ da amostra (g)}} \quad \text{Equação 3}$$

Em que: N é a normalidade da solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$; V_A é o volume da solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ consumido pela amostra (mL); V_B é o volume da solução de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ consumido pelo branco (mL) e m = massa da amostra (g).

4.2.2.4. 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.

4.2.2.5. Viscosidade cinemática

O método NBR 10441 da ABNT foi realizado na determinação da viscosidade cinemática 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 óleo escoe, sob gravidade, através do tubo capilar entre as duas marcas de calibração A e B.

Sarah Soares Damasceno

Durante a determinação, o viscosímetro permanece imerso em um banho termostático a 40°C. A partir do capilar escolhido e, conseqüentemente, da sua constante 'θ' e do tempo medido experimentalmente, a viscosidade cinemática é determinada, de acordo com a Equação 4.

$$v = \theta \times t \quad \text{Equação 4}$$

Onde: v é a viscosidade cinemática, t é o tempo (s) de escoamento da amostra e θ é a constante do capilar.

4.2.2.6. Estabilidade à oxidação-Rancimat

Os ensaios de estabilidade oxidativa foram realizados em duplicatas no equipamento 873 Biodiesel Rancimat da marca Metrohm utilizando o método EN 14112. Nessa análise, 3 gramas 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 voláteis. O resultado, expresso como período de indução (PI), é determinado a partir do ponto de inflexão da curva. Os cálculos dos períodos de indução foram realizados com o auxílio do programa que acompanha o equipamento (Software 873 - Rancimat).

4.2.2.7. Ponto de névoa

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

4.2.2.8. Ponto de fluidez

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

4.2.2.9. Ponto de entupimento filtro a frio

A determinação do ponto de entupimento de filtro a frio (PEFF) foi realizada em Sarah Soares Damasceno

equipamento da marca TANAKA Scientific Limited, modelo AFP-102, de acordo com a norma ASTM D 6371.

4.3 Biodiesel de soja

4.3.1 Síntese do biodiesel

Biodiesel de soja foi obtido a partir da reação de transesterificação do óleo de soja comercial, na proporção 1:6 (óleo: etanol), utilizando 1% (m/m) de KOH como catalisador. Iniciou-se a reação de transesterificação ao adicionar a solução homogênea de KOH e etanol ao óleo de soja, com agitação magnética de 700 rpm a temperatura de 25 °C. Após o tempo reacional a mistura foi transferida para um funil de separação, onde duas fases foram observadas, uma mais densa e escura, rica em glicerina e outra menos densa e clara, rica em ésteres etílicos. A fase mais densa foi removida e posteriormente o biodiesel foi lavado com ácido clorídrico 0,5 mol L⁻¹ e água destilada previamente aquecida, para remoção do catalisador e traços de glicerina, seco a vácuo a temperatura de 80 °C por 30 minutos para eliminar traços de água.

4.3.2 Composição química

A identificação dos ésteres de ácidos graxos na amostra de biodiesel foi realizada em um cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massa (GC-MS), marca SHIMADZU, modelo GCMS-QP2010. A coluna capilar utilizada foi a Durabond – DB-23 (30 m x 0.25mm e 0,25 µm de espessura). O gás Hélio foi utilizado como gás de arraste, com vazão de 3 mL min⁻¹ e volume de injeção de 1 µL, usando o modo split com razão de splitting de 1:50. A temperatura do detector MS foi de 230 °C.

4.3.3 Caracterização físico-química

A caracterização físico-química do biodiesel de soja foi realizada de acordo com os subitens 4.2.2.1, 4.2.2.3, 4.2.2.4, 4.2.2.5, 4.2.2.6, 4.2.2.7, 4.2.2.8, 4.2.2.9.

4.3.3.1. Estabilidade à oxidação- petroOXY

As análises foram realizadas em duplicatas no equipamento petrotest 413. Amostras de 5mL foram pressurizadas em atmosfera de oxigênio com aproximadamente 700 kPa e temperatura de 110 °C. O período de indução foi observado quando uma mudança de 10% da pressão máxima (dependente da natureza da amostra) inicialmente alcançado foi detectada pela curva de pressão em função do tempo.

4.3.3.2. 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.

4.3.3.3. Resíduo de Carbono

O método NBR 15586 da ABNT foi realizado na determinação de resíduo de carbono. Nesta análise uma quantidade de amostra é colocada em um frasco de vidro e é aquecida a 500 °C em uma atmosfera inerte de nitrogênio, de modo controlado e por um intervalo de tempo específico. A amostra sofre reações de coqueificação e os voláteis são retirados pelo nitrogênio. Os resíduos de carbono remanescente são relatados em porcentagem da amostra original como “microresíduo de carbono”.

4.4 Aditivação e armazenamento

O biodiesel foi armazenado em tanque de aço carbono (Figura 17), na ausência da luz em temperatura média de 26,8 °C durante um período de três meses. Nos tanques foram armazenados o biodiesel puro (controle, sem antioxidante) BSJ, biodiesel aditivado com ácido caféico (BSC), biodiesel aditivado com ácido ferúlico (BSF) e biodiesel aditivado com TBHQ (BST) na concentração de 1.000 mg kg⁻¹ dos antioxidantes.



Figura 17. Tanques de aço carbono utilizados para o armazenamento das amostras de biodiesel de soja aditivada e não aditivada com antioxidantes.

4.5 Processo oxidativo com tempo de estocagem

O processo oxidativo das amostras armazenadas foi acompanhado em um período total de três meses, sendo as amostras analisadas após a aditivação em intervalo de tempo mensal. Nessas análises foram determinados os seguintes parâmetros: índice de iodo, índice de peróxido e acidez como descrito em 4.2.2.1, 4.2.2.2, 4.2.2.3. Foram realizadas análises de HPLC e técnicas aceleradas (Figura 18).

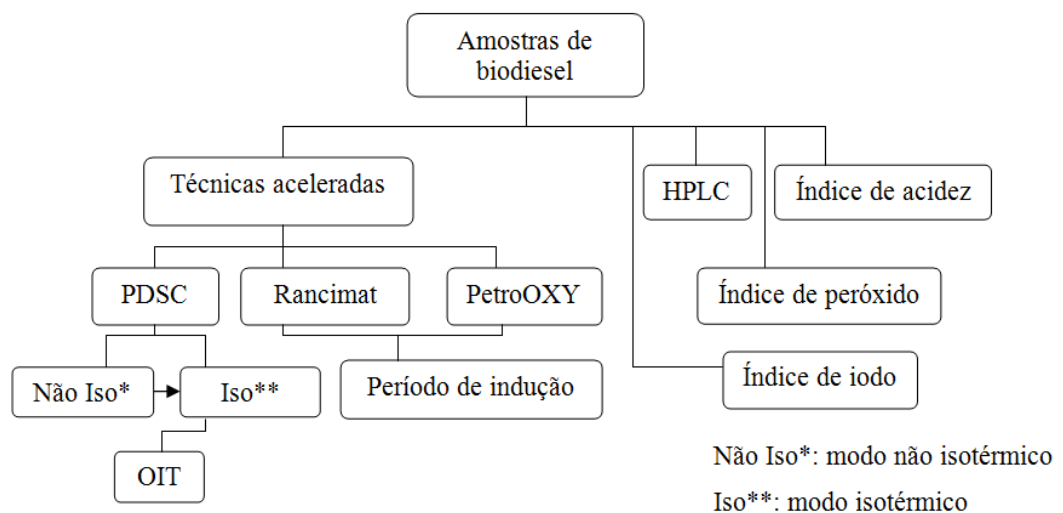


Figura 18: Fluxograma das análises realizadas durante o período de armazenamento para as amostras de biodiesel aditivadas e não aditivadas com antioxidantes.

4.5.. Técnicas aceleradas

4.5.1.1 Rancimat

As análises foram realizadas como descrito em 4.2.2.6.

4.5.1.2 PetroOXY

Os ensaios foram realizados como descrito em 4.3.2.1.

4.5.1.3 Calorimetria Diferencial de Varredura Pressurizada

As curvas de P-DSC foram obtidas pelo calorímetro exploratório diferencial pressurizado, da TA Instrument DSC Q1000, nas condições não isotérmicas e isotérmicas.

As curvas não isotérmicas foram analisadas a fim de avaliar a temperatura adequada a ser utilizada na isoterma. Utilizou-se aproximadamente 10 mg da amostra, sob atmosfera de oxigênio e pressão de 1400 kPa (203psi) em cadinho de platina. O intervalo de temperatura foi de 25-600 °C com razão de aquecimento 10 °C min⁻¹. As curvas isotérmicas foram determinadas, a fim de avaliar o tempo de indução oxidativa, nas mesmas condições de pressão, atmosfera e quantidade de amostras, exceto temperatura de 110 °C na isoterma.

4.5.2 Cromatografia Líquida de Alta Resolução

A determinação da concentração de ésteres etílicos insaturados (C18:1, C18:2, C18:3) presentes nas amostras de biodiesel (sem e com antioxidantes) foi realizada em um comatógrafo líquido de alta resolução SHIMADZU, modelo HPLC 1200 SERIE, equipado com desgaseificador a vácuo, bomba quaternária, injetor automático, temperatura controlada da coluna, detector UV. A separação foi obtida com a coluna supelco C-18 (250 x 4,6mm ,5µm partículas) . O método utilizado na análise cromatográfica consistiu de eluição isocrática com 90% de acetonitrila (grau HPLC), 10% de água deionizada e taxa de fluxo de 1mL min⁻¹. A temperatura da coluna foi mantida em 35 °C e comprimento de onda em 205nm.

4.5.2.1 Curva analítica

Os padrões de oleato, linoleato e linolenato de etila todos com grau de pureza maior que 99,8%, padrões Sigma-Aldrich, foram usados sem manipulação adicional. Os compostos foram acondicionados em ampolas com temperatura inferior a -15 °C na ausência de luz até sua manipulação.

As curvas analíticas com os padrões dos ésteres etílicos foram preparadas a partir das concentrações 2,0; 1,0; 0,75; 0,5 e 0,25 mg mL⁻¹ para o oleato e linoleato de etila e 0,8; 0,6; 0,4; 0,2; e 0,12 mg mL⁻¹ para o linolenato de etila.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados foram discutidos em dois artigos, cuja temática é dividida por técnicas aceleradas e por cromatografia líquida de alta eficiência. No artigo 1 as técnicas rancimat, petrOXY e P-DSC foram utilizadas na determinação da estabilidade oxidativa do biodiesel etílico de soja, bem como na avaliação da atividade antioxidante dos ácidos caféico, ferúlico e TBHQ. No artigo 2 a cromatografia líquida de alta eficiência e análise físico-química foram usados como parâmetros na avaliação dos antioxidantes fenólicos e TBHQ, quanto ao seu controle na estabilidade à oxidação do biodiesel de soja.

5.1 ARTIGO 1:

ÁCIDOS CAFÉICO E FERÚLICO: INVESTIGAÇÃO DO EFEITO ANTIOXIDANTE NA ESTABILIDADE DO BIODIESEL DE SOJA DURANTE ARMAZENAMENTO

Sarah S. Damasceno^{1}, Nataly A. Santos¹, Ieda M. G. Santos¹, Antônia L. Souza¹, Antônio G. Souza,¹ Neide Queiroz¹*

¹Departamento de Química, CCEN, Universidade Federal da Paraíba, 58051-900, João Pessoa, Paraíba, Brazil.

**sarahdamasceno@gmail.com*

RESUMO

Fatores relevantes à degradação do biodiesel são reportados na literatura como a exposição ao ar, temperatura elevada, presença de metais e insaturações na cadeia alquílica do éster. Fato esse, que justifica a susceptibilidade do biodiesel de soja ao desenvolvimento da rancidez oxidativa. Neste trabalho, técnicas aceleradas: rancimat, petrOXY e análise térmica foram realizadas a fim de determinar a estabilidade oxidativa do biodiesel de soja (BSJ) e do biodiesel aditivado com os antioxidantes, ácido caféico (BSC), ácido ferúlico (BSF) e *terc*-butilhidroquinona (BST) durante o período de armazenamento. Na determinação do período de indução (PI) pelo método rancimat os três antioxidantes foram eficientes em retardar o processo oxidativo no tempo inicial do armazenamento. A estabilidade à oxidação pelos parâmetros acelerados avaliados seguiu a ordem BSC > BSF > BST. Ressalta-se a eficiência do ácido caféico em manter os valores de PI durante o período total de estocagem, cujo valor foi de 6,7 h pelo método rancimat no tempo de 90 dias, atendendo o limite especificado pela EN 14214. A ação dos antioxidantes estudados está correlacionada à sua estrutura química e estabilidade térmica.

PALAVRAS CHAVE: biodiesel, ácido caféico, ácido ferúlico, soja, armazenamento.

Sarah Soares Damasceno

INTRODUÇÃO

O perfil de ácido graxo correspondente à matéria-prima na produção do biodiesel influencia as propriedades do combustível. No processo convencional de transesterificação 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 sua composição segue a de seus óleos e gorduras de origem¹.

Fatores relevantes à degradação de ácidos graxos são reportados na literatura como a exposição ao ar, temperatura elevada e presença de metais.²⁻⁶ A reatividade química da cadeia de olefina é determinada pela configuração e insaturações na cadeia alquílica do éster.⁷ Fato esse, que está associado a processos oxidativos. Nesse sentido, o biodiesel de soja, que possui em sua composição, quantidade de ésteres de ácidos graxos insaturados, em especial, o oleato (C18:1), linoleato (C18:2) e linolenato de etila (C18:3) é susceptível ao desenvolvimento da rancidez oxidativa^{2,8}.

Os produtos da oxidação (aldeídos, cetonas alcoóis, peróxidos, etc.) são em parte, responsáveis por ocasionar problemas no funcionamento do motor. Para controlar a qualidade do biodiesel inserido no mercado de combustíveis foi determinado pelo Comitê Europeu de Normalização que o biodiesel deve ter no mínimo um período de indução (PI) de 6 h, empregando o método Rancimat (EN14112)⁹⁻¹⁰.

Os fatores que favorecem a auto-oxidação do biodiesel devem ser evitados ou diminuídos, a fim de prolongar a sua qualidade por um maior período de tempo. O uso de antioxidantes que atuam interferindo no processo oxidativo tem sido reportado na literatura^{2,7,11}.

Os ácidos fenólicos são largamente reconhecidos por sua atividade antioxidante em inibir processos oxidativos em alimentos e em sistemas biológicos¹¹⁻¹⁴. Merecendo destaque os ácidos hidroxinâmicos presentes em muitas plantas¹¹. O ácido caféico (AC) pode ser encontrado em frutas e vegetais, tais como: ameixa, maçã, uvas e tomates, juntamente com outras moléculas polifenólicas¹⁵. Já o ácido ferúlico (AF) possui ocorrência natural na linhaça¹³ trigo, milho, aveia e especialmente rico na forma de éster em farelos de arroz¹⁶.

No que se refere à atividade antioxidante do AC e AF, a sua estrutura molecular está inteiramente correlacionada, Figura 1. O ácido caféico possui dois grupos hidroxilas na posição 3 e 4 do anel benzênico e uma ligação dupla em conjugação com o grupo carboxílico e o anel. Na estrutura do ácido ferúlico o grupo hidroxila na posição 3 do AC é substituída por

Sarah Soares Damasceno

um grupo metoxila. Estudos teóricos conformacionais realizados com estes ácidos sugeriram uma preferência por uma geometria planar. Esta planaridade é previsível, haja vista que a deslocalização de elétrons é favorecida através de um sistema π expandido¹⁷.

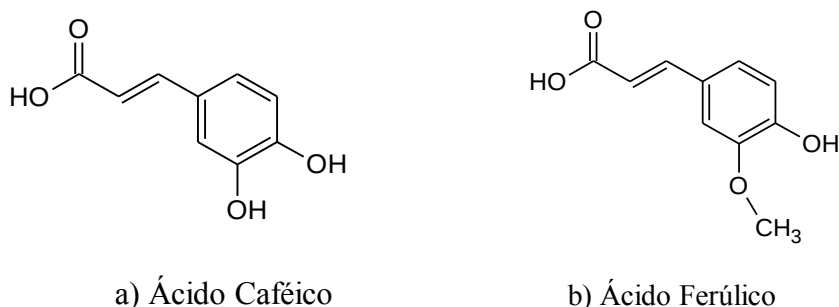


Figura 1. Estrutura química do ácido cafêico (a) e ácido ferúlico (b).

Além da estrutura molecular, outro fator relevante na determinação da ação antioxidante no presente estudo está correlacionado ao perfil térmico dos compostos. As técnicas aceleradas para determinar a estabilidade oxidativa do biodiesel utilizam altas temperaturas em tempos prolongados, esse fato compromete a atividade dos compostos em questão, podendo os mesmos volatilizar ou decompor na temperatura de análise. Sendo a técnica termogravimétrica (TG) uma ferramenta útil na determinação da temperatura inicial de decomposição/volatilização dos antioxidantes.

Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antioxidante do AC, AF e o *terc*-butil-hidroquinona (TBHQ, por ser o antioxidante largamente utilizado na indústria)³ ao biodiesel etílico de soja em função do tempo de estocagem.

EXPERIMENTAL

Materiais. Biodiesel de soja foi obtido a partir da reação de transesterificação do óleo de soja comercial, na proporção 1:6 (óleo: etanol), utilizando 1% (m/m) de KOH como catalisador. Iniciou-se a reação de transesterificação ao adicionar a solução homogênea de KOH e etanol ao óleo de soja, com agitação magnética de 700 rpm a temperatura de 25 °C. Após o término da reação, o biodiesel foi lavado com ácido clorídrico 0,5 mol L⁻¹ e água destilada previamente aquecida, seco a vácuo a temperatura de 80 °C por 30 minutos para eliminar traços de água.

Antioxidantes. Ácido cafêico, ferúlico e *terc*-butil-hidroquinona (TBHQ) padrões Sigma-Sarah Soares Damasceno

Aldrich foram aditivados ao biodiesel de soja na concentração de 1.000 mg kg^{-1} .

Métodos. As propriedades físico-químicas do biodiesel foram avaliadas segundo as normas Europeia EN-14214¹⁰, Americana ASTM D-6751-11b¹⁸ e a especificação da Agência Nacional de Petróleo Gás Natural e biocombustível (ANP) Res.7/2008.¹⁹

Estabilidade Oxidativa. A estabilidade oxidativa do biodiesel etílico de soja foi avaliada durante o armazenamento por um período de três meses, através das técnicas aceleradas: Rancimat, PetroOXY e calorimetria diferencial de varredura pressurizada (P-DSC). Os antioxidantes foram aditivados ao biodiesel e as análises referentes ao processo oxidativo foram realizadas em período mensal.

Rancimat. Durante o processo de armazenamento as amostras foram analisadas pelo equipamento Rancimat® 873 da Metrohm, em duplicatas, na temperatura de 110°C de acordo com o método EN ISO 14112. O período de indução (PI) foi determinado a partir do ponto de inflexão da curva de condutividade (Software 873 - Rancimat).

PetroOXY. As análises foram realizadas no equipamento Petrotest 413 em duplicatas. Amostras foram submetidas à temperatura ambiente e pressurizadas em atmosfera de oxigênio com aproximadamente 700 kPa. Elevou-se a temperatura a 110°C e uma pressão máxima foi atingida de acordo com a natureza da amostra.

P-DSC. As curvas do P-DSC foram obtidas pelo calorímetro diferencial de varredura pressurizado, da TA Instrument DSC Q1000, nas condições não isotérmicas e isotérmicas. As curvas não isotérmicas foram analisadas a fim de avaliar a temperatura adequada a ser utilizada na isoterma. Utilizou-se aproximadamente 10 mg da amostra, sob atmosfera de oxigênio e pressão de 1.400 kPa (203psi) em cadinho de platina. O intervalo de temperatura foi de $25\text{-}600^\circ\text{C}$ com razão de aquecimento $10^\circ\text{C min}^{-1}$. Curvas isotérmicas foram determinadas, a fim de avaliar o tempo de indução oxidativa (OIT), nas mesmas condições de pressão, atmosfera e quantidade de amostras, exceto temperatura de 110°C na isoterma.

Análise termogravimétrica. Curvas termogravimétricas (TG) foram obtidas no modo não isotérmico em um Analisador Térmico da Shimadzu, Simultaneous DTA-TG, modelo DTG-60 H, em atmosfera de ar sintético, na razão de aquecimento de $20^\circ\text{C min}^{-1}$, com aproximadamente 10 mg de amostra, no intervalo de temperatura de $25\text{-}1.000^\circ\text{C}$ (correspondente a faixa de temperatura na qual todos os eventos térmicos ocorrem). Foram obtidas simultaneamente as curvas de análise térmica diferencial (DTA).

Composição em ésteres de ácidos graxos. A identificação dos ésteres de ácidos graxos na amostra de biodiesel foi realizada em um cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro

Sarah Soares Damasceno

de massa (GC-MS), marca SHIMADZU, modelo GCMS-QP2010. A coluna capilar utilizada foi a Durabond – DB-23 (30 m x 0,25mm e 0,25 μm de espessura). O gás Hélio foi utilizado como gás de arraste, com vazão de 3 mL min^{-1} e volume de injeção de 1 μL , usando o modo split com razão de splitting de 1:50. A temperatura do detector MS foi de 230 $^{\circ}\text{C}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 mostra a composição em ésteres de ácidos graxos do biodiesel etílico de soja, cujos principais constituintes são oleato, linoleato, palmitato e linolenato de etila.

Tabela 1. Composição de ésteres de ácidos graxos do biodiesel etílico de soja.

Éster de ácido graxo	%
C14:0 (Miristato)	0,1
C16:0 (Palmitato)	11,7
C16:1 (Palmitoleato)	0,1
C18:0 (Estearato)	3,7
C18:1 (Oleato)	23,9
C18:2 (Linoleato)	52,8
C18:3 (Linolenato)	6,9
C20:0 (Araquidato)	0,4
C22:0 (Behenato)	0,4
Saturado	16,4
Unsaturado	83,6

Na Tabela 2 estão apresentados os valores dos parâmetros físico-químicos obtidos para avaliação da qualidade do biodiesel etílico de soja. Os valores citados encontram-se dentro do limite determinado pela Resolução 7/2008 da ANP, exceto no que se refere à estabilidade oxidativa. O período de indução (PI) de 4,3 h foi inferior ao limite mínimo permitido, justificando desta forma, o uso de aditivos para corrigir a baixa estabilidade oxidativa do biodiesel de soja. Com relação aos valores estipulados pela norma americana (ASTM D 6751-11b) e europeia (EN 14214), o PI não atendeu apenas a norma europeia.

Tabela 2. Propriedades físico-químicas do biodiesel etílico de soja antes do armazenamento.

Propriedades	Resultados	Método	Limites		
			ANP Res.7/2008	ASTM D 6751-11b	EN 14214
Viscosidade Cinemática 40 °C (mm ² /s)	4,5	ASTM D 445	3,0-6,0	1,9-6,0	3,5-6,0
Ponto de Entupimento Filtro a Frio (° C)	9,0	ASTM D 6371	19	-	-
Valor de Acidez (mg.KOH/g)	0,2	Value D-664-11	max 0,5	0,5	0,5
Teor de água (mg/kg)	377	EN ISO 12937	max 500	-	max 500
Densidade em 20 ° C (kg/m ³)	879,3	ASTM D 4052	850-900	-	860-900
Resíduo de carbono (g)	0,051	ASTM D 4530	0,050	max 0,05	0,3
Ponto de Fulgor (° C)	109,5	ASTM D 93	min 100.0	min 130	min 101
Índice de iodo (g.I ₂ /100g)	125,22	EN 14111	-	-	120
Estabilidade Oxidativa 110° C (h)	4,34	EN 14112	min 6	min 3	min 6
Ponto de Névoa (°C)	-3,0	ATSM D 7683-11	-	Anotar	-
Ponto de Fluidez (°C)	-4,0	ASTM D 6749-02	-	-	-

O monitoramento da estabilidade das amostras de biodiesel com e sem os antioxidantes mostrou a eficiência de todos os aditivos no início do armazenamento. Os valores PI foram superiores ao requerido pelas normas: EN 14214 e ASTM D 6751-11b. A Figura 2 mostra a evolução dos valores de PI obtidos pelo método Rancimat em função do tempo de estocagem para cada amostra.

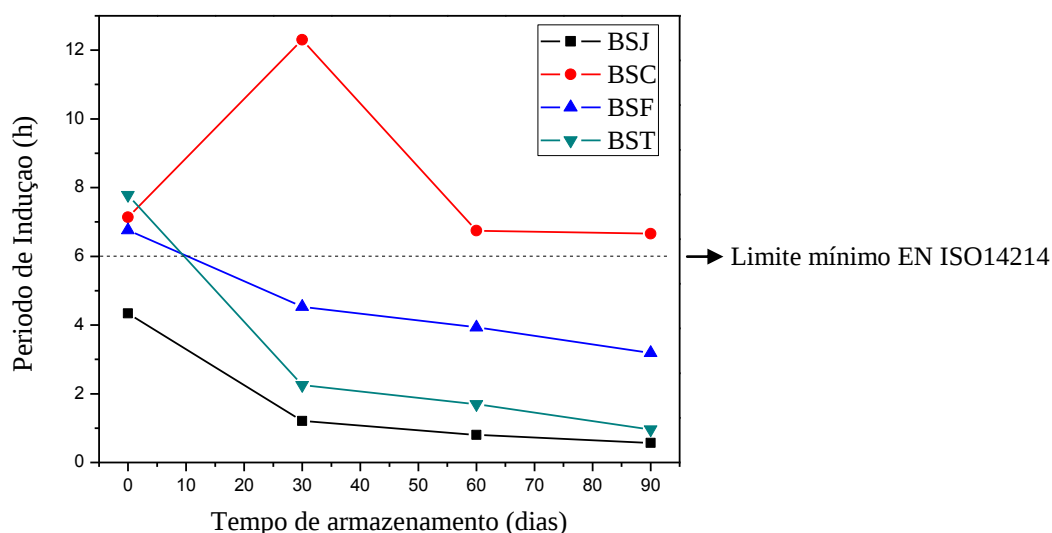


Figura 2. Valores de período de indução em função do tempo para as amostras BSJ biodiesel de soja sem antioxidante, BSC com antioxidante ácido caféico, BSF aditivada com ácido ferúlico e BST com TBHQ nos tempos: inicial, 30, 60 e 90 dias.

A maior resistência do biodiesel aditivado durante o processo oxidativo é atribuído a doação preferencial do hidrogênio fenólico do antioxidante com relação ao hidrogênio do carbono alílico e *bis*-alílico dos ésteres linoleato e linolenato de etila, respectivamente. A formação do radical fenólico retarda o início do processo oxidativo,²⁰⁻²⁴ como consequência, um tempo maior é necessário para formação dos produtos secundários da auto-oxidação (aldeídos, cetonas, peróxidos, etc.).

Durante o período de armazenamento foi verificado um decréscimo no PI para as amostras BSJ, BSF e BST. De acordo com a literatura, os antioxidantes perdem sua eficiência em função do tempo de estocagem^{5,13}. Esse comportamento mostrou que os antioxidantes AF e TBHQ no primeiro mês foram consumidos e/ou perderam a eficiência para interromper a etapa de propagação. Apesar disso, verifica-se o comportamento antioxidante melhor do ácido ferúlico com relação ao TBHQ durante todo o período de estocagem. A eficiência antioxidante mais elevada do AF é atribuída a sua capacidade de doação do hidrogênio fenólico e estabilização do radical formado, através da ressonância em um sistema π conjugado. A mesma capacidade (doação do hidrogênio fenólico e estabilização do radical) também é atribuída ao AC². Porém, o comportamento antioxidante do ácido caféico foi diferenciado com relação ao AF. Um aumento de 72% no valor de PI foi observado após 30 dias de armazenamento para a amostra BSC, indicando que houve um retardo na formação de hidroperóxidos e na posterior decomposição em produtos voláteis. De acordo com a literatura, diversos fatores podem ser responsáveis pela formação de espécies antioxidantes mais efetivas^{25,26}.

A eficácia do AC em elevar o PI provavelmente está relacionada à formação da *o*-quinona e regeneração do ácido caféico, através do desproporcionamento do radical semiquinona inicialmente formado pela reação do antioxidante e o radical livre presente no biodiesel,²⁵ conforme ilustrado na Figura 3. O processo desta conversão contribui para a potencial atividade antioxidante como sequestrador de radical peroxila. Este processo corrobora com os resultados de PI obtidos nos períodos de 60 a 90 dias. Um comportamento singular foi obtido para o BSC cujos valores de PI permaneceram não somente constantes nesse intervalo de tempo, bem como semelhantes ao obtido no tempo inicial do armazenamento.

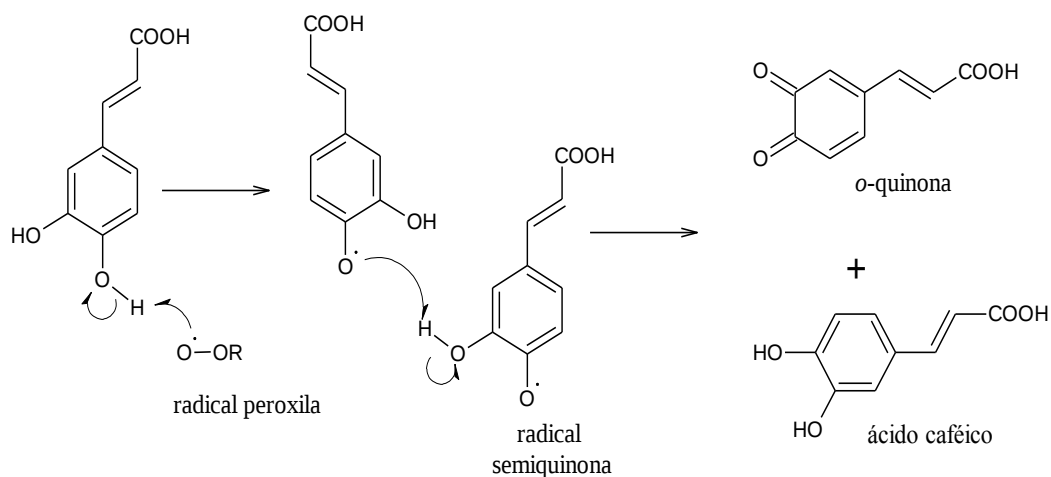


Figura 3. Mecanismo possível da atividade antioxidante do ácido caféico (R- representa a cadeia carbônica do éster).

A avaliação da estabilidade das amostras BSJ, BSC, BSF e BST pelo método PetroOXY, Figura 4 mostrou o mesmo comportamento verificado no método Rancimat. O fator de mudança no PI, observado para o BSC entre o tempo inicial (2,82 h) e após 30 dias (6,4 h) foi aproximadamente o mesmo obtido pelo Rancimat, bem como para os tempos de 60 a 90 dias, mantendo os valores de períodos de indução iguais ao valor obtido do tempo inicial do armazenamento.

Em termo quantitativo, as diferenças nos valores de PI obtidas em ambos os métodos é indicativo da detecção de diferentes fases da auto-oxidação do biodiesel. No método Rancimat, o valor de PI é detectado pela formação de compostos voláteis (aldeídos, cetonas, alcoóis etc.), que são compostos secundários da auto-oxidação, logo, esse método determina a susceptibilidade à rancificação. Enquanto que o PI obtido pelo método petroOXY indica o tempo entre o início da análise e a detecção da redução específica da pressão (de acordo com a natureza da amostra), a qual indica que a resistência à oxidação foi superada²⁷.

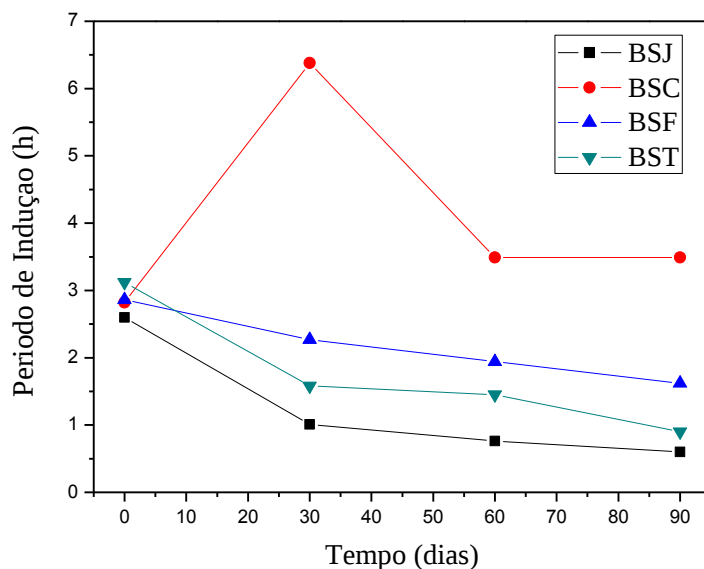


Figura 4. Valores de período de indução em função do tempo para as amostras BSJ biodiesel de soja sem antioxidante, BSC com antioxidante ácido caféico, BSF aditivada com ácido ferúlico e BST com TBHQ nos tempos: inicial, 30, 60 e 90 dias.

A capacidade antioxidante diferenciada entre os ácidos fenólicos e o TBHQ está correlacionada a sua estrutura molecular. Os ácidos caféico e ferúlico possuem maior deslocalização eletrônica (grupo hidroxila e ligação dupla em conjugação com ácido carboxílico), favorecendo uma expansão do sistema π . A presença do grupo metoxila na posição meta do AF lhe confere menor disponibilidade de hidrogênios fenólicos e a formação de um radical menos estável quando comparado ao AC (formação da *o*-quinona). A literatura também relata que a menor capacidade antioxidante do AF está associada à energia de dissociação da ligação de hidrogênio²⁰. Segundo Choe et al.²⁵ a transferência de hidrogênio para o radical peróxido é termodinamicamente mais favorável quando a energia de dissociação da ligação OH é baixa. Diferentemente do AF, o TBHQ forma radical *o*-quinona quando este doa elétrons ao radical peróxido, assim como ocorre para o AC, porém a sua baixa estabilidade térmica pode comprometer a sua atividade antioxidante².

Ramalho e Jorge constataram as diferenças de atividade antioxidantes existentes entre ácidos fenólicos. Uma comparação quantitativa do comportamento cinético da inibição oxidativa de alguns ácidos benzóicos quando aplicados em banha aquecida a 100 °C foi realizada utilizando os ácidos *p*-hidroxibenzóico, vanílico, sirínico, e 3,4-diidroxibenzóico e ácidos *p*-cumárico, ferúlico, sinápico e caféico. A atividade antioxidante dos compostos estudados apresentou a seguinte ordem: ácido caféico > 3,4-diidroxibenzóico > sinápico > Sarah Soares Damasceno

siríngico > ferúlico > *p*-cumárico > vanílico. O maior potencial antioxidante do ácido caféico e o 3,4 dihidroxibenzóico foi atribuído a presença das hidroxilas nas posições 3 e 4.²³ A literatura ratificam a maior atividade antioxidante do ácido caféico em relação ao ácido ferúlico^{20, 28}.

A ação antioxidante no controle do processo oxidativo do biodiesel também foi avaliado usando as curvas isotérmicas P-DSC a 110 °C, Figura 5. Os valores de estabilidade oxidativa confirmam a maior atividade antioxidante do ácido caféico relatada na literatura.^{2,25-26} Figura 6.

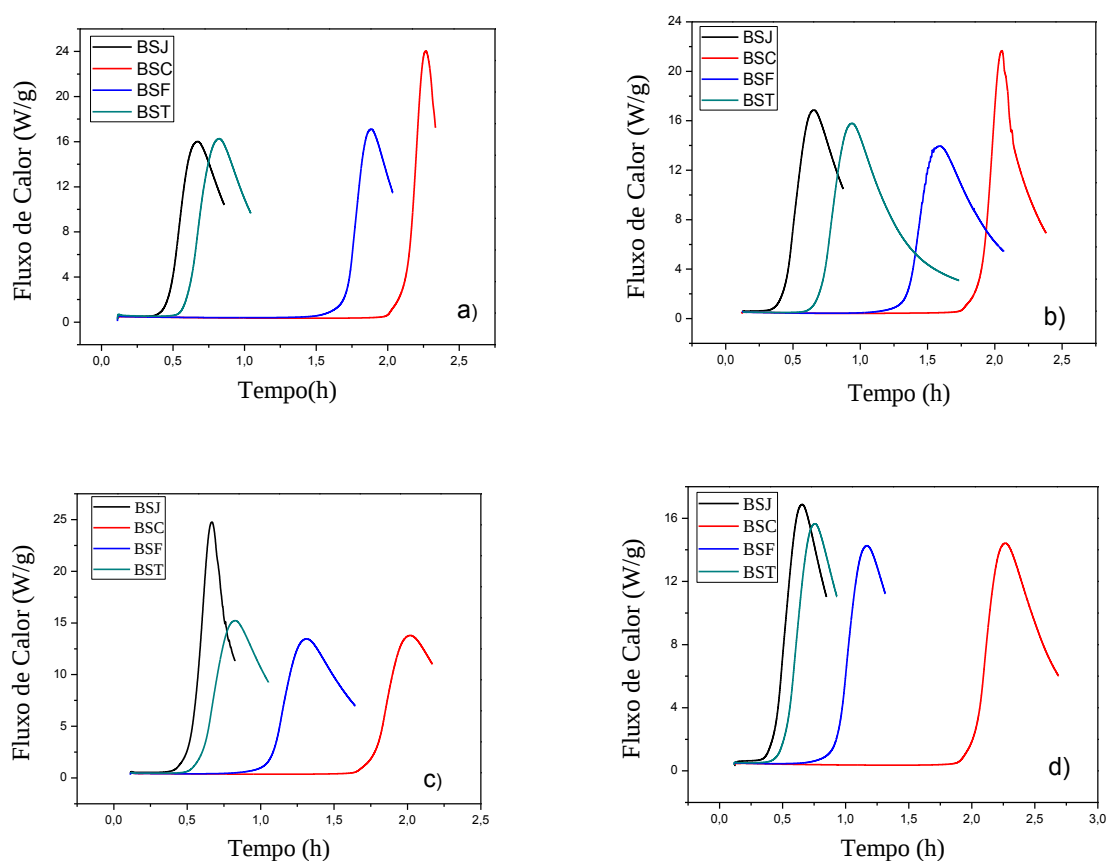


Figura 5. Curvas de P-DSC no modo isotérmico (a) tempo inicial (b) tempo 30 dias (c) tempo 60 dias (d) tempo 90 dias para as amostras de BSJ, BSC, BSF e BST.

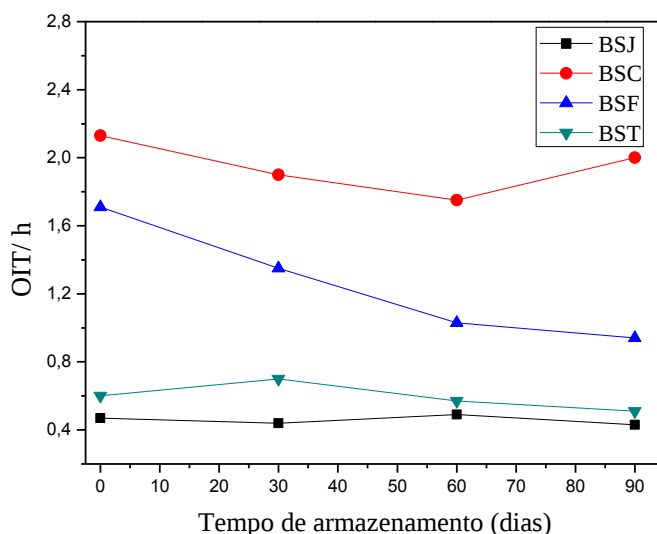


Figura 6. Valores de OIT obtidos pela técnica P-DSC em função do tempo para as amostras BSJ biodiesel de soja sem antioxidante, BSC com antioxidante ácido caféico, BSF aditivada com ácido ferúlico e BST com TBHQ.

De acordo como os resultados obtidos pela técnica P-DSC foi possível verificar que o ácido caféico e seus produtos são eficientes em atuar no processo de captura dos radicais livres, pois nesta técnica o processo de oxidação é visualizado como um pico exotérmico, o qual indica a etapa inicial da propagação ($R^{\bullet} + O_2 \rightarrow ROO^{\bullet}$), Figura 5. Amostras com maior quantidade de radicais livres favorecem as colisões entre as moléculas de oxigênio e os radicais, portanto é necessário um tempo de indução oxidativa (OIT) mais curto para observar o pico exotérmico. As condições de armazenamento do biodiesel, tais como: temperatura, presença de luz e metais traz como consequência o aumento de radicais livres e consumo de antioxidante, fazendo com que amostras com maior tempo de envelhecimento tenham menor OIT.

A estabilidade térmica dos antioxidantes foi determinada pelas curvas termogravimétricas, Figura 7. A avaliação da temperatura de decomposição dos antioxidantes está também correlacionada, com a capacidade em retardar o processo oxidativo, haja vista, que pelos métodos utilizados, uma temperatura de 110 °C foi requerida na análise. Esta temperatura pode ocasionar a volatilização e/ou decomposição de alguns antioxidantes, como também provocar modificações em suas moléculas, resultando na diminuição ou anulação de sua atividade².

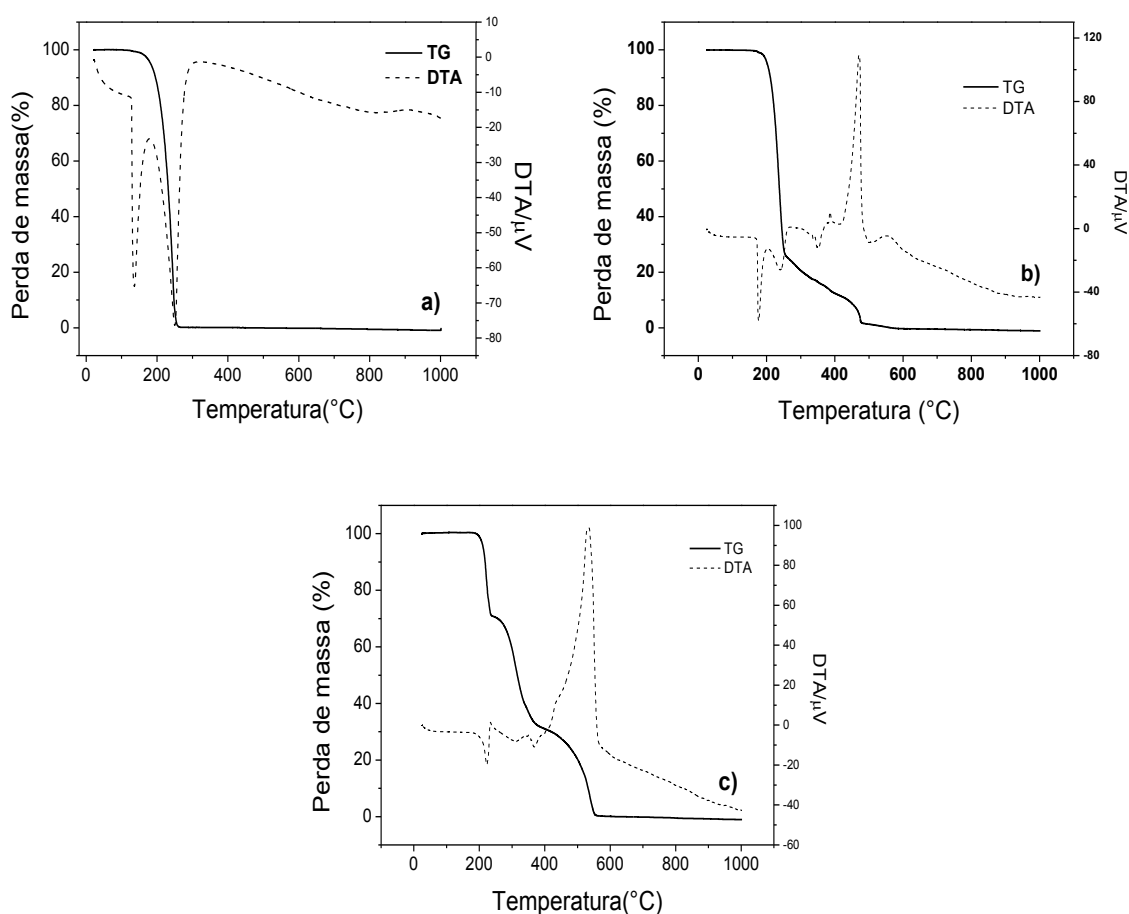


Figura 7. Curvas termogravimétricas dos antioxidantes a) TBHQ b) ácido ferúlico c) ácido caféico.

De acordo com as curvas termogravimétricas, os ácidos AF e AC apresentaram maior resistência térmica quando comparados ao TBHQ, Tabela 3. Este fato ratifica a eficiência antioxidantes dos mesmos, bem como, possibilita o seu uso como aditivos ao biodiesel, uma vez que o método Rancimat é normatizado a 110 °C. Já o TBHQ apresentou temperatura de decomposição em 98 °C, inferior a temperatura utilizada nas técnicas aceleradas, ocorrendo à volatilização e decomposição do composto logo no início da análise.

Tabela 3. Valores obtidos por TG/DTA para o TBHQ, ácido ferúlico, ácido caféico.

Antioxidantes	TG			DTA		
	Etapas	T _{inicial} (°C)	T _{final} (°C)	Transição	Processo	T (°C)
TBHQ	1 ^a	98	272	1 ^a	endo	136
				2 ^a	endo	259
Ácido ferúlico	1 ^a	147	268	1 ^a	endo	177
	2 ^a	268	407	2 ^a	endo	240
	3 ^a	407	492	3 ^a	endo	348
	4 ^a	492	606	4 ^a	exo	386
				5 ^a	exo	471
Ácido caféico				6 ^a	exo	553
	1 ^a	170	246	1 ^a	endo	222
	2 ^a	246	394	2 ^a	endo	312
	3 ^a	394	570	3 ^a	endo	368
				4 ^a	exo	535

Os ácidos ferúlico e caféico apresentaram 4 e 3 etapas de decomposição térmica com temperatura inicial de 147 °C e 170 °C respectivamente. Os valores de decomposição para ácidos fenólicos estão acima da temperatura utilizada nos métodos acelerados, corroborando com os dados da atividade antioxidante obtida pelos mesmos.

A temperatura mais elevada requerida para o início da decomposição dos ácidos fenólicos ratifica a eficiência destes como antioxidantes nos ensaios de estabilidade oxidativa. Em contrapartida o TBHQ apresentou menor temperatura inicial de decomposição que as utilizadas nas técnicas aceleradas. A estabilidade térmica dos antioxidantes foi: ácido caféico > ácido ferúlico > TBHQ.

As curvas DTA apresentaram duas transições endotérmicas para o TBHQ. A primeira transição foi atribuída possivelmente à fusão, por apresentar pequena mudança na linha de base e a segunda atribuída à decomposição e/ou volatilização.

CONCLUSÃO

A estabilidade térmica dos antioxidantes apresentou a mesma sequência observada para a estabilidade oxidativa, isto é, $AC > AF > TBHQ$. De forma que estes dois parâmetros estão diretamente relacionados à estrutura molecular dos antioxidantes.

No início do armazenamento os antioxidantes (ácido caféico, ácido ferúlico e TBHQ) foram capazes de interferir no processo oxidativo do biodiesel de soja. O ácido caféico manteve o valor do período de indução superior ao determinado pelo método EN 14214 e a Resolução 7/2008 da ANP durante os 90 dias de armazenamento. Diferente do ácido ferúlico e TBHQ que perderam a atividade antioxidante. De acordo com os métodos acelerados, a ordem de estabilidade oxidativa para as amostras aditivadas no período de estocagem foi: $BSC > BSF > BST$.

REFERÊNCIAS

- (1) Domingos, A. K.; Saad, E. B; Vechiatto, W. W. D.; Wilhelme, H. M.; Ramos, L. P. J. *Braz. Chem. Soc.* **2007**, 18, 416-423.
- (2) Santos, N. A.; Damasceno, S. S.; Araújo, P. H. M.; Marques, V. C.; Rosenhaim, R.; Valter Junior, V. J.; Queiroz, N.; Santos, I. M. G.; Maia, A. S.; Souza, A. G. *Energy Fuel*, **2011**, 25, 4190-4194.
- (3) Jain, S.; Sharma, M. P. *Renewable Sustainable Energy Rev.* **2010**, 14, 667–678.
- (4) Candeia, R. A.; Sinfionio, F. S.; Bicudo, T. C.; Queiroz, N.; Barros Filho, A. K. D.; Soledade, L. E. B.; Santos, I. M. G.; Souza, A. L.; Souza, A. G. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2011**, 106, 581-586.
- (5) Tang, H.; De Guzman, R. C.; Ng, K. Y. S.; Salley, S. O. *Energy Fuels* **2010**, 24, 2028–2033.
- (6) Conceição, M. M.; Valter Junior, V. J.; Araújo, A. S.; Farias, M. F.; Santos, I. M. G.; Souza, A. G. *Energy Fuels* **2007**, 21, 1522-1527.
- (7) Jain, S.; Sharma, M. P. *Energy Fuels* **2011**, 25, 1276–1283.

- (8) Ferrari, R. A.; Souza, W. L. *Quim. Nova* **2009**, 32, 106–111.
- (9) Xin, J.; Imahara, H.; Saka, S. *Fuel*, **2009**, 88, 282–286.
- (10) European Committee for Standardization (CEN). EN 14214 Automotive Fuels—Fatty Acid Methyl Esters (FAME) for Diesel Engines— Requirements and Test Methods; CEN: Brussels, Belgium, 2010.
- (11) Sun-Waterhouse, D.; Thakorlal, J.; Zhou, J. *International Journal of Food Science and Technology*. **2011**, 46, 1575–1585.
- (12) Fernandes, A.; Fernandes, I.; Cruz, L.; Mateus, N.; Cabral, M.; Freitas, V. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. **2009**, 57, 11154–11160.
- (13) Choo, Wee-Sim.; Birch, E. J. *Lipids*, **2009**. 44,145–152.
- (14) Musuda, T.; Yamada, K.; Akiyama, J.; Someya, T.; Odaka, Y.; Takeda, Y.; Tori, M.; Nakashima, K.; Maekawa, T.; Sone, Y. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, 56, 5947–5952.
- (15) Olthof, M. R.; Hollman, P. C.H.; Katan, M. B. *The Journal of Nutrition* **2001**, 131, 66–71.
- (16) Zupfer, J. M.; Churchill, K. E.; Rasmusson, D. C.; Fulcher, R. G. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, 46, 1350–1354.
- (17) VanBesien, E.; Marques, M. P. M. *Journal of Molecular Structure (Theochem)* **2003**, 625, 265–275.
- (18) American Society for Testing and Materials (ASTM). ASTM D6751-11b. Standard Specification for Biodiesel Fuel Blend Stock (B100) for Middle Distillate Fuels; ASTM: West Conshohocken, PA, 2011; doi:10.1520/D6751-11B.
- (19) Agência Nacional do Petróleo (ANP), Gás Natural e Biocombustíveis. Resolution 7; ANP: Rio de Janeiro, Brazil, 2008; <http://nxt.anp.gov.br/NXT/gateway.dll?f=templates&fn=default.htm&vid=anp:10.1048/enu>.
- (20) Roche, M.; Dufour, C.; Mora, N.; Dangles, O. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, 3, 423–430.

- (21) Du, L.; Yu, P.; Rossnagel, B. G.; Christensen, D. A.; Mckinnon, J. J. *J. Agric. Food Chem.* 57, 4777–4783
- (22) Marinova, E. M.; Toneva, A.; Yanishlieva, N. *Food Chemistry* **2009**, 114, 1498–1502.
- (23) Ramalho, V. C.; Jorge, N. *Quim. Nova* 2006, 29, 755–760.
- (24) Robbins, R. J.; *J. Agric. Food Chem.* 2003, 351, 2866– 2887.
- (25) Choe, E.; Min, D. B. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **2009**, 8, 345-358.
- (26) Andueza, S.; Manzocco, Lara.; Peña, M. P.; Cid, C.; Nicoli, C. *Food Research International* **2009**, 42, 51-55.
- (27) Araújo, S. V.; Luna, F. M. T.; Rola Junior, E. M.; Azevedo, D. C. S.; Cavalcante Junior, C. L. *Fuel Processing Technology* **2009**, 90,1272–1277.
- (28) Kikuzaki, H.; Hisamoto, M.; Hirose, K.; Akiyama, K.; Taniguchi, H. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, 50, 2161-2168.

5.2 ARTIGO 2:

INFLUÊNCIA DOS ÁCIDOS CAFÉICO E FERÚLICO NA ESTABILIDADE À OXIDAÇÃO DO BIODIESEL DE SOJA POR HPLC

Sarah S. Damasceno^{1*}, Angela T. Cordeiro¹, Ieda M. G. Santos¹, Antônia L. Souza¹, Antônio G. Souza,¹ Neide Queiroz¹

¹Departamento de Química, CCEN, Universidade Federal da Paraíba, 58051-900, João Pessoa, Paraíba, Brazil.

*sarahdamasceno@gmail.com

RESUMO

Compostos fenólicos são relatados na literatura por sua atividade antioxidante, sendo capazes de retardar a oxidação do biodiesel. Neste trabalho, ácido caféico, ácido ferúlico e TBHQ foram aditivados ao biodiesel de soja e avaliados quanto a sua capacidade antioxidante por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), durante o período de armazenamento. Os métodos físico-químicos: índice de iodo, peróxido e acidez foram também usados na determinação da estabilidade à oxidação do biodiesel. Pela análise de HPLC a eficiência em retardar o processo oxidativo foi elucidada pela diminuição menos significativa da concentração de oleato, linoleato e linolenato de etila, quando comparada a amostra sem aditivo (BSJ). De acordo com o índice de peróxido e HPLC, as amostras de biodieseis apresentaram a seguinte ordem de maior resistência à oxidação: BSC > BST > BSF > BSJ, este fato está de acordo com a estrutura molecular dos antioxidantes estudados.

Palavras chave: biodiesel, ácido caféico, ácido ferúlico, cromatografia líquida de alta resolução, estabilidade oxidativa.

1. Introdução

O uso de biodiesel na consolidação do programa de energia renovável tem causado implicações de ordem econômica, social e ambiental. O aspecto favorável a esse tipo de biocombustível é relatado na literatura como baixa emissão de poluentes CO, SO_x e hidrocarbonetos, elevado número de cetano, origem renovável e biodegradável. Em contra partida, sua susceptibilidade à oxidação pode interferir sua viabilidade comercial, causando problemas no funcionamento dos motores [1-3].

Os compostos fenólicos têm se destacado como poderoso antioxidante contra a deterioração oxidativa de ácidos graxos poliinsaturados. A estrutura química desses

Sarah Soares Damasceno

compostos favorece a formação de radicais estáveis. Dentre eles, os ácidos caféico e ferúlico, são amplamente reconhecidos como antioxidantes [4-6].

Recentemente, a atividade dos antioxidantes naturais: ácido caféico (AC), ácido ferúlico (AF), polifenol do chá composto por ácido oléico, oleato de epigallocatequina galato, oleato de epicatequina, oleato de epigallocatequina e água (LTP), polifenol do chá constituído de epigallocatequina galato, epicatequina, epigallocatequina, água (WTP) e sesamol (SE) foram avaliados como aditivos antioxidantes ao biodiesel de soja. Em estudo realizado pela técnica Rancimat, AC apresentou o melhor desempenho no intervalo de concentração em 500 a 1.500 ppm, enquanto que WTP mostrou atividade mais elevada a uma concentração de 2.000 ppm. Para comparação, o efeito estabilizador de três antioxidantes sintéticos α -tocoferol (α -T), butilhidroxitolueno (BHT) e butilhidroxianisol (BHA) foram avaliados simultaneamente. Os resultados mostraram que o efeito de alguns aditivos naturais (WTP, LTP, SE e CA) foram melhores que os aditivos sintéticos (α -T, BHT e BHA) na estabilidade à oxidação do biodiesel de soja. Uma explicação possível para os diferentes efeitos, entre os antioxidantes testados foi elaborada levando em conta sua estrutura molecular [7].

Soares et al.[8] descreveu a química dos ácidos fenólicos e sua utilização como antioxidantes em alimentos e em sistemas biológicos. Em investigações de ácidos fenólicos presentes em grãos de soja, farinha de soja desengordurada, concentrado e isolado protéico de soja, quatro ácidos cinâmicos apresentaram significativa atividade antioxidante. São eles: ácido clorogênico, caféico, *p*-cumárico e ferúlico [8].

Nesse sentido, a avaliação da atividade antioxidante no controle da estabilidade do biodiesel tem sido amplamente realizada por técnicas aceleradas, para avaliar a resistência e o grau de oxidação lipídica [3,9-11]. Entre os métodos mais utilizados, na análise de produtos primários e secundários da oxidação tem-se: o método Rancimat [12], a calorimetria diferencial de varredura pressurizada (PDSC) [2] e o método PetrOXY [13]. O grande problema dessas análises é a falta de correlação entre os diferentes parâmetros utilizados para determinar o grau de oxidação (formação de produtos secundários, absorção de oxigênio etc.), os quais não refletem o mesmo estado de evolução do processo oxidativo, ou as condições experimentais em que se efetuaram as referidas determinações [14].

A necessidade de investigar os processos oxidativos, através de métodos analíticos, possui uma importância singular no estudo da estabilidade do biodiesel durante o período de armazenamento. A cromatografia é uma das principais e a mais empregada técnica de análise química instrumental, para compostos orgânicos. A determinação da composição da amostra

Sarah Soares Damasceno

de biodiesel por cromatografia líquida de alta eficiência constitui vantagem em relação à cromatografia gasosa, por não necessitar de derivatização [15].

Análises físico-químicas têm sido também bastante utilizadas na avaliação da rancidez oxidativa do biodiesel. Vários autores avaliaram a qualidade do biodiesel durante o tempo de estocagem e investigaram as propriedades físicas do combustível [16-21]. Valores de acidez, viscosidade, peróxido e densidade aumentaram com o tempo de armazenamento. Esses resultados corroboram com os dados mencionados com Bondioli et al. [22] e Thompson et al.[23] que estudaram a deterioração dos ésteres metílicos do óleo de canola sob diferentes condições de estocagem, os valores de acidez, peróxido e viscosidade aumentaram com o tempo de armazenamento.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a estabilidade à oxidação do biodiesel de soja, no período de estocagem, através da cromatografia líquida alta eficiência. Os índices de peróxido, iodo e acidez foram também utilizados na medição do grau à oxidação. Os antioxidantes ácido caféico, ácido ferúlico e para efeito comparativo o antioxidante terc-butil-hidroquinona (TBHQ) foram aditivados ao biodiesel para avaliar a sua atividade antioxidante durante o armazenamento.

2. Materiais e Métodos

2.1. Síntese do biodiesel de soja

Biodiesel de soja foi obtido a partir da reação de transesterificação do óleo de soja comercial, na proporção 1:6 (óleo: etanol), utilizando 1% (m/m) de KOH como catalisador. Iniciou-se a reação de transesterificação ao adicionar a solução homogênea de KOH e etanol ao óleo de soja, com agitação magnética de 700 rpm a temperatura de 25 °C. Após o término da reação, o biodiesel foi lavado com ácido clorídrico 0,5mol L⁻¹ e água destilada previamente aquecida, seco a vácuo a temperatura de 80 °C por 30 minutos para eliminar traços de água.

2.2. Antioxidantes

Ácido caféico, ácido ferúlico e terc-butil-hidroquinona (TBHQ) foram adquiridos da Sigma-Aldrich e aditivados ao biodiesel de soja na concentração de 1.000 mg kg⁻¹.

2.3. Padrões analíticos

Os padrões de oleato, linoleato e linolenato de etila, com grau de pureza maior que 99,8% foram adquiridos da Sigma- Aldrich.

2.4. Estabilidade oxidativa

A estabilidade oxidativa do biodiesel de soja foi avaliada no período de três meses, as amostras foram armazenadas em tanques de aço de carbono, com temperatura média de 26,8 °C. A avaliação da estabilidade oxidativa foi realizada pela cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), índice de peróxido, iodo e acidez. Os antioxidantes foram aditivados ao biodiesel e as análises referentes ao processo oxidativo foram realizadas mensalmente em duplicatas.

2.4.1. Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

A determinação da concentração do oleato linoleato e linolenato foi realizada em um comatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC) SHIMADZU, modelo HPLC 1200 SERIE, equipado com desgaseificador a vácuo, bomba quaternária, injetor automático, temperatura controlada da coluna, detector UV. A separação foi obtida com a coluna supelco C-18 (250 x 4,6mm, 5µm partículas). O método utilizado para análise cromatográfica constituiu de eluição isocrática com 90% de acetonitrila, 10% de água deionizada e taxa de fluxo de 1mL min⁻¹. A temperatura da coluna foi mantida em 35 °C com comprimento de onda em 205nm.

2.4.2. Análises físico-químicas

As propriedades físico-químicas foram avaliadas durante o período de estocagem pelo índice de acidez, de acordo com o método NBR 11115 da ABNT [24], índice de iodo, pelo método Cd 1-25 da AOCS [25] e índice de peróxido, conforme a metodologia Cd 8-53 da AOCS [26].

2.5. Preparação da curva analítica

Curvas analíticas foram preparadas com os padrões analíticos nas concentrações 2,0; 1,0; 0,75; 0,5 e 0,25 mg mL⁻¹ para o oleato e linoleato de etila, concentrações de 0,8; 0,6; 0,4; 0,2; 0,12 mg mL⁻¹ para o linolenato de etila.

Resultados e Discussão

A tabela 1 apresenta a composição de ésteres de ácidos graxos do biodiesel etílico de soja, obtidos pela cromatografia gasosa, cujos principais constituintes são oleato e linoleato de etila. As características dos ésteres tais como número de hidrogênio *bis*-alílico e presença de ligações duplas estão correlacionados com o processo oxidativo [27]. De acordo com o cromatograma de HPLC, Figura 1, o oleato, linoleato e linolenato de etila estão presentes no biodiesel de soja, fato este que justifica sua maior susceptibilidade à oxidação.

Tabela 1. Composição de ésteres de ácido graxo do biodiesel de soja

Éster de ácido graxo	%
C16:0 (Palmitato)	13.8
C18:0 (Estearato)	4.7
C18:1 (Oleato)	24.6
C18:2 (Linoleato)	48.2
C18:3 (Linolenato)	7.3
C20:0 (Araquidato)	0.3
Saturado	19.0
Unsaturado	80.2

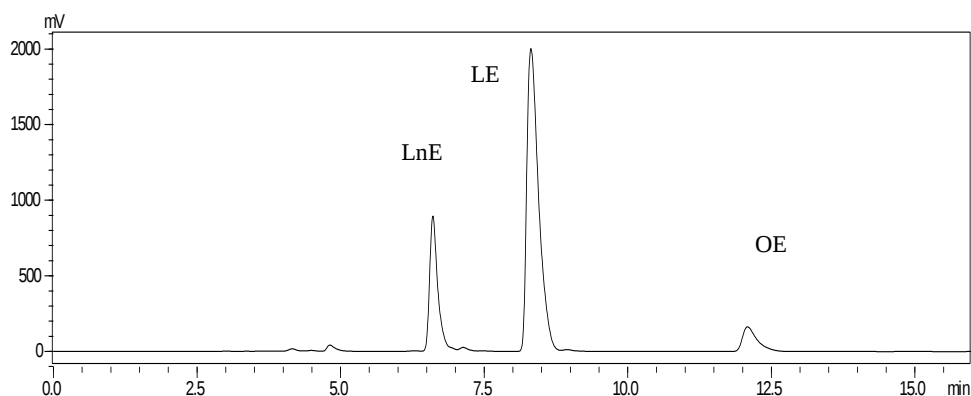


Figura 1. Cromatograma de HPLC com os ésteres: linolenato (LnE), linoleato (LE) e oleato (OE) de etila, presentes na mostra do biodiesel de soja.

As curvas analíticas com os padrões de linolenato, linoleato e oleato de etila, Figura 2 foram obtidas para determinar os valores das constantes analíticas. Na Tabela 2 estão apresentados os valores utilizados no cálculo da concentração dos ésteres por cromatografia líquida de alta eficiência.

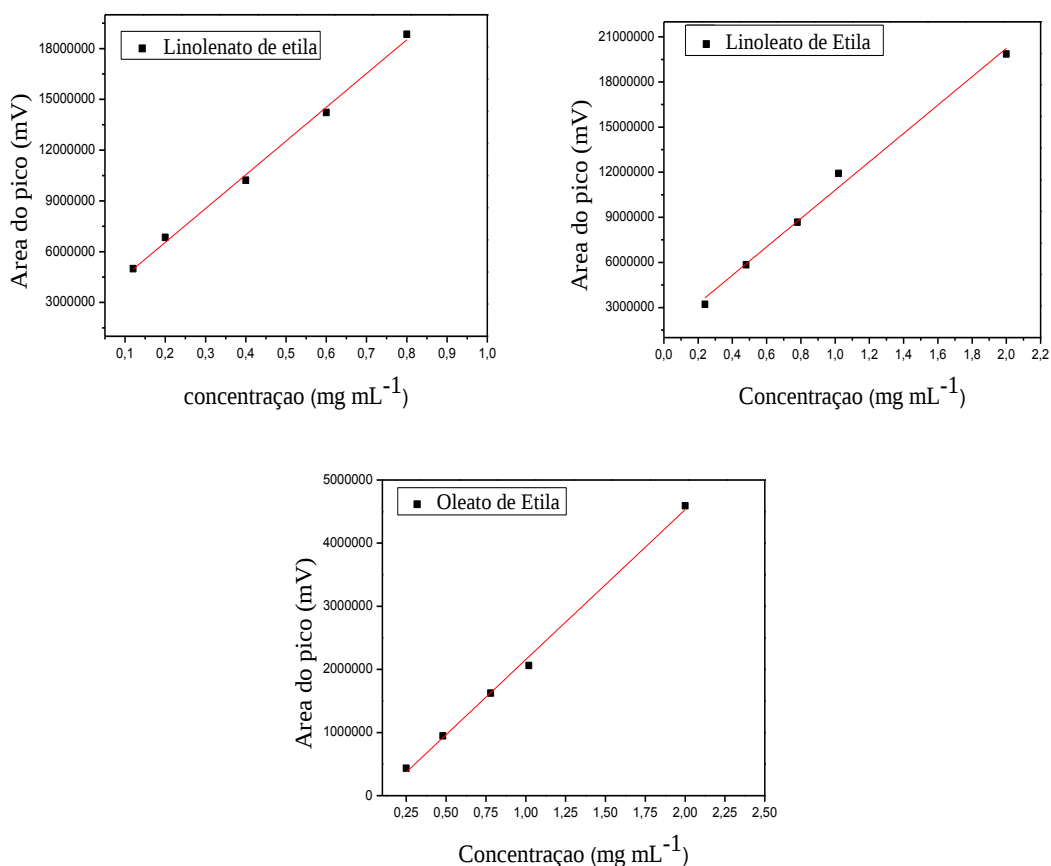


Figura 2. Curvas analíticas dos ésteres: a) linolenato de etila b) linoleato de etila c) oleato de etila.

Sarah Soares Damasceno

Tabela 2: Valores das Constantes Analíticas

Componente	Inclinação	Interseção	R ²
Linolenato de etila	$1,99 \times 10^7$	$2,56 \times 10^6$	0,99588
Linoleato de etila	$9,43 \times 10^6$	$1,37 \times 10^6$	0,99046
Oleato de etila	$2,37 \times 10^6$	$-0,22 \times 10^6$	0,99645

A concentração do oleato de etila nas amostras de BSJ, BSC, BSF e BST é apresentada na Figura 3. De acordo com o gráfico de concentração versus tempo de estocagem, a redução na concentração de oleato foi observada no período de 60 dias de armazenamento para todas as amostras avaliadas, sendo este decréscimo mais pronunciado nas amostras BSJ e BSF com redução de 8,9 e 9,12 % respectivamente, quando comparado ao tempo inicial de estocagem. No período de 90 dias a diminuição na concentração do oleato de etila foi mais significativa para a amostra BSJ (sem aditivo). A presença de antioxidantes nas amostras BSC, BST e BSF retarda o processo de oxidação, como consequência, uma menor redução na concentração do oleato foi observada, pois os antioxidantes podem doar hidrogênios fenólicos, para os radicais inicialmente formados na etapa inicial da oxidação, levando a regeneração do éster.

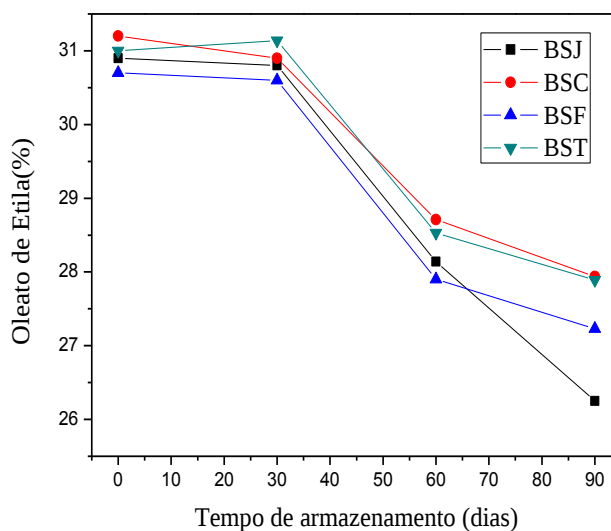


Figura 3. Concentração do oleato de etila (em %) em função do tempo, obtido por HPLC para as amostras BSJ biodiesel de soja sem antioxidante, BSC biodiesel de soja aditivada com ácido caféico, BSF biodiesel de soja com o antioxidante ácido ferúlico, BST biodiesel de soja com TBHQ.

A Figura 4 apresenta a mudança na concentração do linoleato de etila em função do tempo. Neste gráfico um comportamento semelhante ao oleato de etila foi observado, porém a diminuição de linoleato é mais pronunciada, sendo esta redução significativa para a amostra BSJ, cuja redução na concentração foi de 23,5% durante o período de estocagem. As amostras aditivadas BSC, BSF e BST tiveram redução de 9,8; 10,7 e 10,4% respectivamente, no período de 90 dias de armazenamento.

O maior decréscimo na concentração do linoleato de etila em relação ao oleato corrobora com o mencionado na literatura [28]. A formação de radicais é facilitada pelo aumento das insaturações. Segundo Fennema et al. [29] a energia de dissociação da ligação covalente carbono-hidrogênio em uma cadeia alifática é 98 kcal mol^{-1} . Se um átomo de carbono é adjacente à ligação dupla, a ligação covalente carbono-hidrogênio torna-se mais fraca, com energia de dissociação de 89 kcal mol^{-1} . À medida que a energia de dissociação diminui, pela presença de ligações duplas, a abstração do hidrogênio torna-se mais fácil, com consequente oxidação. Sendo a força da ligação do hidrogênio reagente, em reações com abstração de hidrogênio, determinante para a taxa em que essas reações ocorrem [30].

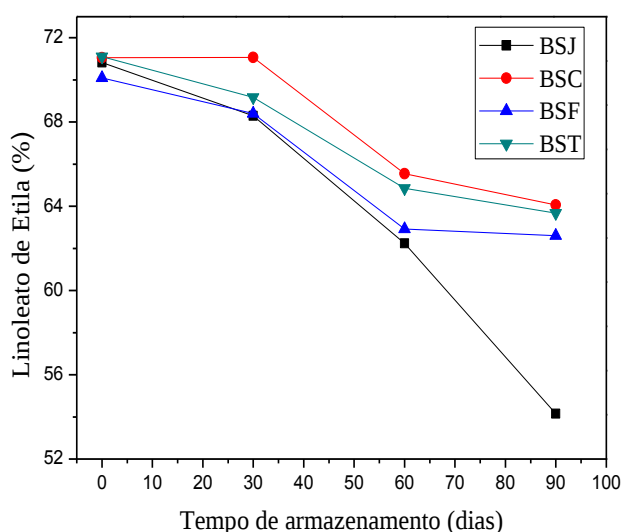


Figura 4. Concentração do linoleato de etila em função do tempo, obtido por HPLC para as amostras BSJ biodiesel de soja sem antioxidante, BSC biodiesel de soja aditivada com ácido caféico, BSF biodiesel de soja com o antioxidante ácido ferúlico, BST biodiesel de soja com TBHQ.

Os antioxidantes AC, TBHQ e AF foram capazes em retardar a oxidação do linolenato de etila. As análises do ácido graxo demonstraram que a adição 1.000 mg kg^{-1} dos antioxidantes aumentou significativamente a estabilidade do LnE. De acordo com a Figura 5, Sarah Soares Damasceno

20,8% de LnE foi reduzido no período de 90 dias de estocagem na amostra BSJ (sem aditivo), considerando que apenas 1,5; 2,7 e 11% de LnE foram reduzidos nas amostras BSC, BST e BSF respectivamente.

O mecanismo através do qual os ácidos graxos insaturados são mais susceptíveis à oxidação é atribuído ao baixo nível de energia livre [31]. Tanto o linolenato e linoleato de etila possuem hidrogênio *bis*-alílico na sua estrutura, este fato favorece a doação de um elétron ou próton para formar um radical estável devido à maior deslocalização eletrônica presente na estrutura.

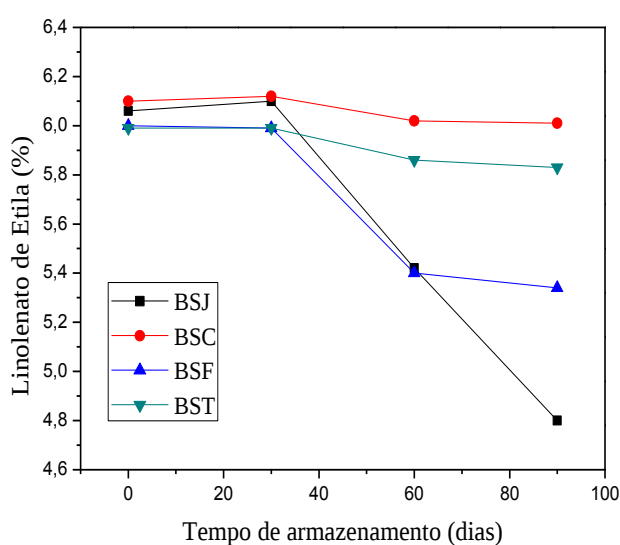


Figura 5. Concentração do linolenato de etila em função do tempo, obtido por HPLC para as amostras BSJ biodiesel de soja sem antioxidante, BSC biodiesel de soja aditivada com ácido caféico, BSF biodiesel de soja com o antioxidante ácido ferúlico, BST biodiesel de soja com TBHQ.

A atividade dos antioxidantes em retardar o processo de oxidação é justificada pela doação de hidrogênio fenólico e sua capacidade em estabilizar o radical fenoxil gerado. A estrutura química e geometria planar do ácido ferúlico favorecem a maior deslocalização de elétrons em um sistema π expandido, já o TBHQ leva a formação do *o*-quinona (radical estável) pela doação de hidrogênio. A atividade antioxidante do ácido caféico está relacionada aos dois fatores mencionados, ou seja, maior deslocalização de elétrons e formação *o*-quinona.

A ação do AC e AF como aditivos ao biodiesel de soja corrobora com o estudo feito por Luo e colaboradores [7], cuja atividade antioxidante do ácido caféico foi maior que o ácido ferúlico na concentração de 1.000 mg kg^{-1} , pelo método rancimat. Santos et al. [4]

Sarah Soares Damasceno

também demonstraram a maior atividade antioxidante do AC quando comparado ao TBHQ aditivados ao biodiesel etílico de soja, pelo método Rancimat na concentração de 1.000 mg kg^{-1} .

Além da técnica cromatográfica, as análises físico-químicas foram realizadas na determinação da estabilidade à oxidação. Através do índice de iodo, acompanhou-se a resistência à oxidação das amostras BSJ, BSC, BSF e BST, armazenadas no período total de 90 dias. O teste avalia o grau de insaturações nas cadeias dos ésteres de ácidos graxos que constituem o biodiesel.

Os resultados mostram aproximadamente o mesmo valor de índice de iodo no tempo inicial, Figura 6. Esse fato pode ser atribuído a mesma composição de oleato, linoleato e linolenato de etila para as amostras de BSJ, BSC, BSF e BST. Observou-se um decréscimo acentuado para todas as amostras no período de 30 a 90 dias de armazenamento.

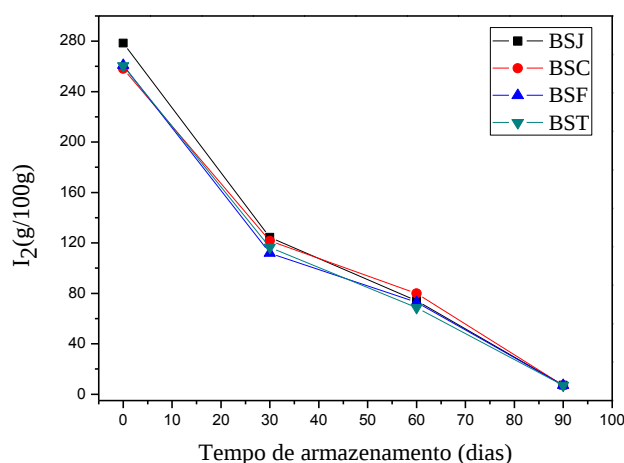


Figura 6. Valores do índice de iodo para as amostras BSJ sem antioxidante (controle), BSC aditivada com ácido caféico, BSF aditivada com ácido ferúlico, e BST aditivada com TBHQ.

Esse comportamento foi previsível durante o período de estocagem, pois há um rompimento das ligações de hidrogênio do carbono alílico e *bis*-alílico, que resulta as reações de polimerização, ciclização e oxidação, levando a diminuição das insaturações [10].

Ressalva-se, porém, que a adição eletrofílica é menos eficiente em duplas conjugadas devido à menor nucleofilicidade, esse fato pode está correlacionado com os resultados similares observado na amostra BSJ (sem aditivo), e amostras aditivadas BSC, BSF e BST.

Outro parâmetro físico-químico de relevância, na avaliação a resistência à oxidação é o índice de peróxido. De acordo com a literatura [10] os valores de peróxidos tendem a

aumentar com o tempo de estocagem, devido à formação de radicais instáveis, que na presença do oxigênio formam peróxidos e hidroperóxidos (compostos primários da oxidação). Os valores de índice de peróxidos estão representados na Figura 7.

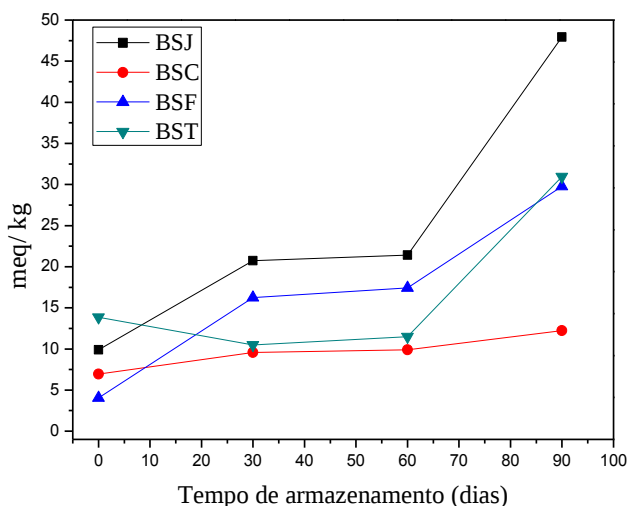


Figura 7. Valores do índice de peróxido para as amostras BSJ sem antioxidante (controle), BSC aditivada com ácido caféico, BSF aditivada com ácido ferúlico, e BST aditivada com TBHQ.

No tempo inicial, valores distintos de peróxidos para as amostras BSJ, BSC, BSF e BST foram obtidos, esse fato pode estar associado à presença de peróxidos na matéria prima utilizada na obtenção do biodiesel. Radicais peróxidos, inicialmente formados transferem elétrons desemparelhados, através da abstração do hidrogênio de uma posição alílica ou um hidroperóxido, o processo se repete indefinidamente, até que a cadeia seja interceptada, porém a literatura afirma que este processo de transferência de hidrogênio é lento e seletivo [32]. Os resultados para tempo de 30 a 60 dias de armazenamento confirmam o mencionado na literatura, em relação à velocidade na etapa de propagação da reação de autoxidação, onde observou valores constantes nesse intervalo de tempo para todas as amostras. No período final (90 dias) as amostras BSJ, BSF e BST tiveram valores elevados de peróxidos, atribuídos ao processo de oxidação, sendo o BST com comportamento intermediário em relação às demais amostras. Apenas o BSC foi capaz em manter os valores de peróxidos, esse resultado é indicativo da eficiência do ácido caféico em retardar o processo oxidativo. O ácido caféico interfere na autoxidação pela doação de hidrogênio fenólico ao radical lipídico e/ou radical peróxido. O radical semiquinona e quinona formado é estabilizado pela ressonância em um sistema completamente conjugado [33]. De acordo com o índice de peróxido, a ordem da

eficiência antioxidante foi $BSC > BST > BSF$.

Pela análise do índice de acidez Figura 8, as amostras BSC e BSF obtiveram valores de acidez mais elevados, em relação à BSJ e BST no tempo inicial. Esse comportamento pode ser elucidado pela presença dos ácidos fenólicos adicionados ao biodiesel, como consequência há um aumento na acidez do meio. Em virtude desse comportamento, não podemos comparar os resultados obtidos pelo índice de peróxido com o índice de acidez para as amostras BSC e BSF. Porém deve-se levar em consideração, a menor variação no valor do índice de acidez para as amostras BSC e BSF quando comparada a amostra BSJ e BST durante o processo de estocagem, este fato pode estar associado à ação dos antioxidantes.

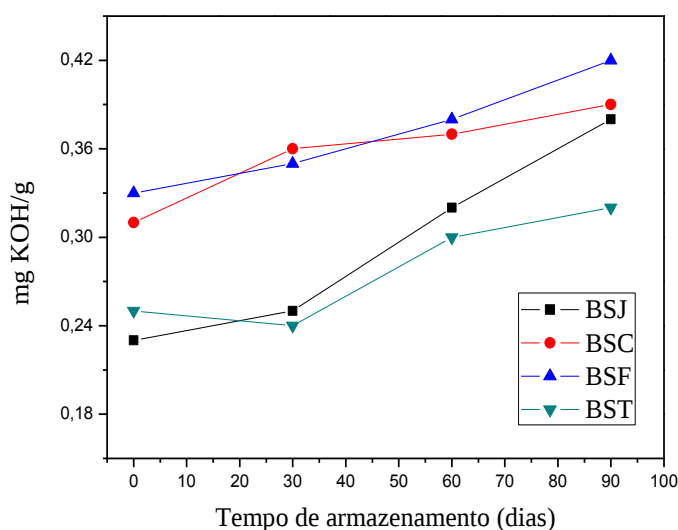


Figura 8. Valores do índice de acidez para as amostras BSJ sem antioxidante (controle), BSC aditivada com ácido caféico, BSF aditivada com ácido ferúlico, e BST aditivada com TBHQ.

A amostra BSJ aumentou o valor de acidez com o tempo de estocagem. Esse aumento está relacionado com o valor do índice de peróxido observados para Figura 7, ou seja, após a formação dos produtos primários (peróxidos e hidroperóxidos) decorrente do processo oxidativo, estes reagem entre si por cisão e/ou rearranjo formando os produtos secundários de oxidação como cetonas e aldeídos que aumentam o valor da acidez do meio.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos por HPLC o processo de oxidação ocorre lentamente, durante o período de 90 dias avaliados. Porém observou-se uma diminuição mais

significativa de oleato, linoleato e linolenato de etila na amostra BSJ. Valores menos pronunciados na redução da concentração dos ésteres nas amostras BSC BSF e BST foram atribuídos a sua ação antioxidante. Sendo a ordem de eficiência antioxidante: AC > TBHQ > AF.

A determinação do índice de peróxido corroborou com os dados obtidos por HPLC, cuja ordem de maior estabilidade à oxidação foi BSC > BST >BSF.

A atividade antioxidante está correlacionada no presente estudo com a estrutura química dos antioxidantes. A formação de radicais estáveis devido à maior deslocalização eletrônica e formação do radical *o*-quinona justifica a ação dos aditivos avaliados.

REFERENCIAS

- [1] Rodrigues FM G, 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. *J. Therm. Anal. Calorim.* 2009; 97:605-9.
- [2] Candeia RA, Sinfrônio FS, Bicudo TC, Queiroz N, Barros Filho AKD, Soledade LEB, Santos IMG, Souza AL, Souza AG. Influence of the storage on the thermo-oxidative stability of methyl and ethyl esters by PDSC. *J. Therm. Anal. Calorim.* 2011; 106: 581-6.
- [3] Silva RB, Lima-Neto AF, Santos LSS, Lima JRO, Chaves MH, Santos-Junior JR, Lima GM, Moura EM, Moura CVR. Catalysts of Cu(II) and Co(II) ions adsorbed in chitosan used in transesterification of soy bean and babassu oils – A new route for biodiesel syntheses. *Bioresource Technology.* 2008; 99:6793–6798.
- [4] Santos NA, Damasceno SS, Araújo PHM, Marques VC, Rosenhaim R, Valter Junior VJ, Queiroz N, Santos I MG, Maia AS, Souza AG. Caffeic Acid: An Efficient Antioxidant for Soybean Biodiesel Contaminated with Metals. *Energy Fuel* 2011; 25:4190-4.
- [5] Sun-Waterhouse D, Thakorlal J, Zhou J. Birch EJ. Effects of added phenolics on the storage stability of avocado and coconut oils Lipids. *International Journal of Food Science and Technology* 2011; 46:1575-85.
- [6] Choo Wee-Sim.; Birch EJ. Radical Scavenging Activity of Lipophilized Products from Lipase-Catalyzed Transesterification of Triolein with Cinnamic and Ferulic Acids. *Lipids Sarah Soares Damasceno*

2009;44:145–52.

[7] Luo M, Zang RY, Zheng Z, Wang JL, Ji JB. Impact of Some Natural Derivatives on the Oxidative Stability of Soybean Oil Based Biodiesel. *J. Braz. Chem. Soc.* 2011;1: 1-6

[8] Soares SE. Ácidos Fenólicos como Antioxidante. *Revista Nutrição* 2002; 15:71-81.

[9] Xin J, Imahara H, Saka S. Kinetics on the oxidation of biodiesel stabilized with antioxidant. *Fuel* 2009; 85: 282-6.

[10] Jain S, Sharma MP. Oxidation stability of blends of jatropha biodiesel with diesel. *Fuel* 2011; 90:3014–20.

[11] Maia ECR, D 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; 92:1750-5.

[12] Farhoosh R. The Effect of Operational Parameters of the Rancimat Method on the Determination of the Oxidative Stability Measures and Shelf-Life Prediction of Soybean Oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 2007; 84:205-9.

[13] Araújo SV, Luna FMT, Rola-Junior EM, Azevedo DCS, Cavalcante-Junior CL. A rapid method for evaluation of the oxidation stability of castor oil FAME: influence of antioxidant type and concentration. *Fuel Processing Technology* 2009; 90:1272–7.

[14] Frankel EM. In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids. *Trends in Food Science Technology* 2009; 4:220-25.

[15] Stephen NC, James TH. Simple and Efficient Method for the Analysis of Transesterification Reaction Mixtures for Biodiesel Production by Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography. *Energy Fuels* 2010; 24:6131-41.

[16] Bondioli P, Gasparoli A, Bella LD, Taghliabue S, Toso G. Biodiesel stability under commercial storage conditions over one year. *European Journal of Lipid Science & Technology* 2003; 105:735–41.

[17] Bouaid A, Martinez M, Aracil J. Long storage stability of biodiesel from vegetable and
Sarah Soares Damasceno

used frying oils. *Fuel* 2007; 86:2596–602.

[18] Sarin A, Arora R, Singh NP, Sharma M, Malhotra RK. Influence of metal contaminants on oxidation stability of Jatropha biodiesel. *Energy* 2009; 34: 1271–75.

[19] Das LM, Bora DK, Pradhan S, Naik MK, Naik SN. Long-term storage stability of biodiesel produced from Karanja oil. *Fuel* 2009; 88: 2315-18.

[20] Aluyor EO, Obahiagbon KO, Ori-jesu M. Biodegradation of vegetable oils: a review. *Scientific Research and Easy* 2009; 4:543–8.

[21] Sharma BK, Suarez PAZ, Perez JM, Erhan SZ. Oxidation and low temperature properties of biofuels obtained from pyrolysis and alcoholysis of soybean oil and their blends with petroleum diesel. *Fuel Processing Technology* 2009; 90:1265-71.

[22] Bondioli P, Gasparoli A, Lanzani A, Fedeli E, Veronese S, Sala M. Storage stability of biodiesel. *Journal of the American Oil Chemists Society* 1995; 72:699–702.

[23] Thompson JC, Peterson CL, Reece DL, Beck SM. Two-year storage study with methyl and ethyl esters of rapeseed. *Transaction of the ASAE* 1998; 41:931–39.

[24] Associação Brasileira de Normas Técnicas, 1998. Substâncias Graxas - Determinação do Índice de Acidez. Método NBR 11115.

[25] Official Methods and Recommended Practices of the AOCS: Fats, Oils and Lipid Related Analytical Methods. 6ed. (edited by D. Firestone). AOCS Press, 2009. Method Cd 1-25 (Iodine Value).

[26] Official Methods and Recommended Practices of the AOCS: Fats, Oils and Lipid Related Analytical Methods. 6ed. (edited by D. Firestone). AOCS Press, 2009. Method Cd 8–53 (Peroxide Value, Acetic Acid-Chloroform).

[27] McCormick RL, Ratcliff M, Moens L, Lawrence R. Several factors affecting the stability of biodiesel in standard accelerated tests. *Fuel Processing Technology* 2007; 88:651–7.

[28] Ulkowski 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; 53: 9073-9077.

Sarah Soares Damasceno

- [29] Damodaran S, Parkin KL, Fennema OR. Química de Alimentos de Fennema. 4th ed. São Paulo: ARTMED; 2010.
- [30] Carey FA, Sundberg RJ. Advanced Organic Chemistry – Part A: Structure and Mechanism. Fifth Edition. 2007.
- [31] Yang L, Cao Y, Chen JN, Chen ZY. Oxidative Stability of Conjugated Linolenic Acids. J. Agric. Food Chem. 2009; 57:4212-17.
- [32] SCHAICH, K. M. Industrial Oil and Fat Products, 6. ed. New York: John Wiley and Sons, 2005.
- [33] Choe, E.; Min, D. B. Mechanisms of Antioxidants in the Oxidation of Foods. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 2009; 8:345-58.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com as técnicas aceleradas, ácidos caféico, ferúlico e TBHQ foram capazes de interferir no processo oxidativo do biodiesel de soja, no tempo inicial do armazenamento. Porém, apenas o ácido caféico manteve o valor do período de indução durante os 90 dias de armazenamento, atendendo o limite permitido pelo método EN 14214 e Resolução 7/2008 da ANP.

A maior eficiência do ácido caféico em minimizar a formação de radicais do processo oxidativo do biodiesel de soja está associado à capacidade de estabilização do radical fenoxila por ressonância e formação de *o*-quinona. Esse fato pode ser usado para explicar o a menor eficiência do ácido ferúlico em manter o PI durante o período de armazenamento.

A ordem de maior da resistência térmica, $AC > AF > TBQH$, corrobora com os dados de proteção antioxidante obtido pelo método de oxidação acelerada.

Durante o tempo de estocagem pelos métodos acelerados: Rancimat, PetroOXY e PSDC concluiu-se que a ordem de ação dos antioxidantes foi: $BSC > BSF > BST$.

O ácido caféico atua mais eficientemente na etapa de propagação em que ocorre a formação dos radicais peroxila e do hidroperóxido, conforme evidenciado pelos valores de PI obtidos pelos métodos rancimat e petroOxy.

De acordo com a técnica de HPLC o processo de oxidação ocorre lentamente, durante o período de 90 dias avaliados. Sendo a ordem de eficiência antioxidante $BSC > BST > BSF$.

A determinação do índice de peróxido corroborou com os dados obtidos pela análise de HPLC, cuja ordem de atividade antioxidante foi $BSC > BST > BSF$.

As análises físico químicas não expressaram de maneira significativa o processo de oxidação do biodiesel no intervalo de tempo avaliado.

A diferença de resultados observados entre os métodos acelerados e a análise de HPLC para a amostra BST é consequência da sua baixa estabilidade térmica.

De acordo os métodos avaliados a atividade antioxidante está correlacionada tanto a estrutura molecular como a estabilidade térmica.

REFERÊNCIAS

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2008. Produtos de Petróleo – Determinação de microrresíduo de carbono. Método NBR 15586.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2007. Produtos de Petróleo - Líquidos Transparentes e Opacos - Determinação da Viscosidade Cinemática e Cálculo da Viscosidade Dinâmica. Método NBR 10441.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas, 1998. Substâncias Graxas - Determinação do Índice de Acidez. Método NBR 11115.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2007 - Determinação do Ponto de Fulgor pelo Aparelho de Vaso Fechado Pensky-Martens. Método NBR 14598.

ALBURQUERQUE, A. R. *Autoxidação de Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos: Estudo Teórico-Experimental*. 2010. 120 f. Dissertação (Mestrado em Química)- Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2010.

ANDREO, D.; JORGE, D. Antioxidantes Naturais: Técnicas de extração. *B.CEPPA*, v. 24, n. 2, p. 319-336, jul./dez. 2006.

ANP – Agência Nacional de Petróleo Gás Natural e Biocombustível. Decreto-lei nº 11.097 de 13 de janeiro de 2005.

ARAÚJO, S. V.; LUNA, F. M. T.; ROLA-JUNIOR, E. M.; AZEVEDO, D. C. S.; CAVALCANTE-JUNIOR, C. L. A rapid method for evaluation of the oxidation stability of castor oil FAME: influence of antioxidant type and concentration. *Fuel Processing Technology*. v. 90, n. , p. 1272–1277, June 2009.

ARRUA, D.; STRUMIA, M. C.; NAZARENO, M. A. Immobilization of Caffeic Acid on a Polypropylene Film: Synthesis and Antioxidant Properties. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. v. 58, n. 16, p. 9228-9234, July 2010.

ASTM – American Society for Testing and Materials, 2007. Standard Test Method for Determination of Water in Petroleum Products, Lubricating Oils, and Additives by Coulometric Karl Fischer Titration. Method D 6304.

Sarah Soares Damasceno

ASTM – American Society for Testing and Materials, 2007. Standard Test Method for Cold Filter Plugging Point of Diesel and Heating Fuels. Method D 6371.

ASTM – American Society for Testing and Materials, 2011. Standard Test Method for Cloud Point of Petroleum Products. Method D 2500.

BAKALBASSIS, E. G.; NENADIS, N.; TSIMIDOU, M. A Density Functional Theory Study of Structure–Activity Relationships in Caffeic and Dihydrocaffeic Acids and Related Monophenols. *JAOCs*, v. 80, n. 5, p. 459-466, May 2003.

BIODIESELBR. B20 um horizonte mais limpo. Ano 3. Nº 13. Out/Nov 2009.

CANDEIA, R. A.; SINFRONIO, F. S.; BICUDO, T. C.; QUEIROZ, N.; BARROS FILHO, A. K. D.; SOLEDADE, L. E. B.; SANTOS, I. M. G.; SOUZA, A. L.; SOUZA, A. G. Influence of the storage on the thermo-oxidative stability of methyl and ethyl esters by PDSC. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. v. 106, n. 2, p. 581-586. Nov. 2011.

CHALAS, J.; CLAISE, C.; EDEAS, M.; MESSAOUDI, C.; VERGNES, L.; ABELLA, A.; LINDENBAUM, A. Effect of ethyl esterification of phenolic acids on low-density lipoprotein oxidation. *Biomed Pharmacother*. v. 55, n. 1, p. 54-60, Aug. 2001.

CHIANG, H. C.; LO, Y. J.; LU, F.J.; Xanthine oxidase inhibitors from the leaves of *Alsophila spinulosa* (Hook) Tryon. *Jour Enzyme Inib*. v. 8, n.1, p. 61-71, 1994.

CHOO, WEE-SIM.; BIRCH, E. J. Radical Scavenging Activity of Lipophilized Products from Lipase-Catalyzed Transesterification of Triolein with Cinnamic and Ferulic Acids. *Lipids*, v. 44, p. 145–152, 2009.

Comité Européen de Normalisation (CEN), 2003.– Fat and Oil Derivatives. Fatty Acid Methyl Esters (FAME). Determination of Oxidation Stability. Method EN 14112 (Accelerated Oxidation Test).

CORNARD, J. P.; LAPOUGE, C.; Theoretical and Spectroscopic Investigations of a Complex of Al (III) with Caffeic Acid. *J. Phys. Chem. A*. v.108, n. 20, p. 4470-4478, Mar. 2004.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. *Química de Alimentos de Fennema*. 4. ed. São Paulo: ARTMED, 2010.

DANTAS, M. B.; ALBUQUERQUE, A. R.; BARROS, A. K.; RODRIGUES FILHO, M. G.; ANTONIOSI FILHO, N. R.; SINFRÔNIO, F. S. M.; ROSENHAIM, R.; SOLEDADE, L. E. B.; SANTOS, I. M. G.; SOUZA, A.G. Evaluation of the oxidative stability of corn biodiesel. *Fuel*, v. 90, n. 1, p. 773-778, 2011.

DANTAS, M. B. “*Blendas de biodiesel: Propriedades de Fluxo, Estabilidade Térmica, e Oxidativa e Monitoramento Durante Armazenamento.*” 115f. 2010. Tese (Doutorado em Química)- Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2010.

DU, L.; YU, P.; ROSSNAGEL, B. G.; CHRISTENSEN, D. A.; MCKINNON, J. J. Physicochemical Characteristics, Hydroxycinnamic Acids (Ferulic Acid, p-Coumaric Acid) and Their Ratio, and in Situ Biodegradability: Comparison of Genotypic Differences among Six Barley Varieties. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. v. 57, n. 11, p. 4777-4783, nov. 2009.

DUPONT, J.; SUAREZ, P. A. Z.; MENEGHETTI, M. R.; MENEGHETTI, S. M. P. Catalytic production of biodiesel and diesel-like hydrocarbons from triglycerides. *Energy Environmental Science*. v. 2, n. 1, p. 1258-1265, Oct. 2009.

FALLEN, B. D.; PANTALONE, V. R.; SAMS, C. E.; KOPSELL, D.A.; VAUGHN, S. F.; MOSER, B. R. Effect of Soybean Oil Fatty Acid Composition and Selenium Application on Biodiesel Properties. *J. Am. Oil Chem. Soc.* V. 88, p. 1019-1028, Feb. 2011.

FARHOOSH, R. The Effect of Operational Parameters of the Rancimat Method on the Determination of the Oxidative Stability Measures and Shelf-Life Prediction of Soybean Oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* v. 84, n. 1, p. 205-209, Jan. 2007.

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

FERRERES, F.; FIGUEIREDO, R.; BETTENCOURT, S.; CARQUEIJEIRO, I.; JULIANA, O.; GIL-IZQUIERDO, A.; PEREIRA, D. M.; VALENTÃO, P.; ANDRADE, P. B.; DUARTE, P.; BARCELO, A. R.; SOTTOMAYOR, M. Identification of phenolic compounds in isolated vacuoles of the medicinal plant *Catharanthus roseus* and their interaction with vacuolar class III peroxidase: an H₂O₂ affair? *Journal of Experimental Botany*, v. 62, n. 8, p. 2841-2854, Fev. 2011.

FERNANDES, A.; FERNANDES, I.; CRUZ, L.; MATEUS, N.; CABRAL, M.; FREITAS, V. Antioxidant and Biological Properties of Bioactive Phenolic Compounds from *Quercus suber* L. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. v. 57, p. 11154-11160, Apr. 2009.

GAVRILOVA, V.; KAJDZANOSKA, M.; GJAMOVSKI, V.; STEFOVA, M.; Separation, Characterization and Quantification of Phenolic Compounds in Blueberries and Red and Black Currants by HPLC_DAD_ESI-MSn. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. v. 59, n. 1, p. 4009–4018, Mar. 2011.

HUANG, R. Y.; CHOU, C. C. Heating Affects the Content and Distribution Profile of Isoflavones in Steamed Black Soybeans and Black Soybean Koji. *J. Agric. Food Chem.* v. 56, n. 18, p. 8484-8489, Agust. 2008.

IGLESIAS, J.; PAZOS, M.; ANDERSEN, M.L.; SKIBSTED, L. S.; MEDINA, I. Caffeic Acid as Antioxidant in Fish Muscle: Mechanism of Synergism with Endogenous Ascorbic Acid and α -Tocopherol. *J. Agric. Food Chem.* v.57, p.675–681, 2009.

JAIN, S.; SHARMA, M. P. Stability of biodiesel and its blends: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*; v. 14, n. 2, p. 667-678, 2010.

KAMAL-ELDIN, A. Effect of fatty acids and tocopherols on the oxidative stability of vegetable oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* v. 58, p. 1051-1061, 2006.

KANG, N. J.; LEE, K. W.; SHIN, B. J.; JUNG S. K.; HWANG, M. K.; BODE, A. M.; HEO Y.; LEE, H. J.; DONG, Z. Caffeic acid, a phenolic phytochemical in coffee, directly inhibits Fyn kinase activity and UVB-induced COX-2 expression. *Carcinogenesis*. v. 30, n. 2, p. 321-330, dez. 2009.

KIKUZAKI, H.; HISAMOTO, M.; HIROSE, K.; AKIYAMA, K.; TANIGUCHI, H.; Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Related Compounds. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. V.50, n.7, p. 2161-2168, fev. 2002.

KNOTHE, G. Analysis of oxidized biodiesel by ^1H -NMR and effect of contact area with air. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* v. 108, p. 493-500, 2006.

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

KOSHIHARA, Y.; NEICHI, T.; MUROTA, S.-I.; LAO, A.-N.; FUJIMOTO, Y.; TATSUNO, T. Caffeic acid is a selective inhibitor for leukotriene biosynthesis. *Biochimica et Biophysica*
Sarah Soares Damasceno

Acta. v. 792, n.1 , p. 92-97, Jan. 1984.

KOWALSKI, R.; Changes of linoleic acid concentration during heating of some plant-origin oils with polyphenol addition. *Journal of Food Quality*. v. 33, n. 3, p. 269-282, June 2010.

LANÇAS, F. M. *Cromatografia Líquida Moderna: HPLC/ CLAE*. Campinas: Editora Átomo, 2009.

LEUNG, Y. F.; MONZ, C. Visitor Impact Monitoring: Old Issues, New Challenges. *The George Wright Fórum*, v. 23, n. 2, p. 7-10, 2006.

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

LUCENA, I. L.; SILVA, F. G.; FERNANDES, F. A. N.; Biodiesel Production by Esterification of Oleic Acid with Methanol Using a Water Adsorption Apparatus. *Ind. Eng. Chem. Res.* v. 47, n. 18, p. 6885–6889, July 2008.

LUO, M.; ZHANG YU, R.; ZHENG, Z.; WANG LI, J.; JI BING, J. Impact of Some Natural Derivatives on the Oxidative Stability of Soybean Oil Based Biodiesel. v. 23, n. 2, p. 241-246. 2012.

MAIA, E. C.R.; BORSATO, D.; MOREIRA, I.; SPACINO, K. R.; RODRIGUES, P. R. P.; GALLINA, A. L. Study of the biodiesel B100 oxidative stability in mixture with antioxidants. *Fuel Processing Technology*, v. 92, n. 9, p. 1750-1755, May 2011.

MAGGI-CAPEYRON, M.-F.; CEBALLOS, P.; CRISTOL, J. P.; DELBOSC, S.; LE DOUCEN, C.; PONS, M.; LEGER, C. L.; DESCOMPS, B. Wine phenolic antioxidants inhibit ap-1 transcriptional activity. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, v. 49, n. 11 ,p. 5646-5652, Oct. 2001.

MAURÍCIO, A. Q. *Estudo da atividade antioxidante do ácido caféico e da PIH: um polifenil natural e um quelante sintético*. 2006. 95 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade de Brasília, Distrito Federal, 2006.

MUSUDA, T.; YAMADA, K.; AKIYAMA, J.; SOMEYA, T.; ODAKA, Y.; TAKEDA, Y.; TORI, M.; NAKASHIMA, K.; MAEKAWA, T.; SONE, Y. Antioxidation Mechanis Studies of Caffaic Acid: Identification of Antioxidation Products of Methyl Caffate from Lipid

Oxidation. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. v. 56, n. 14, p. 5947-5952, June. 2008.

MOTHÉ, C. G.; AZEVEDO, A. D. *Análise Térmica de Materiais*. São Paulo: iEditora, 2002.

NAIK, C.V.; WESTBROOK, C. K.; HERBINET, O.; PITZ, W. J.; MEHL, M. Detailed chemical kinetic reaction mechanism for biodiesel components methyl stearate and methyl oleate. *Proceedings of the Combustion Institute*. v. 33, n. 1, p. 383-389, Sept. 2011.

Official Methods and Recommended Practices of the AOCS: Fats, Oils and Lipid Related Analytical Methods. 6ed. (edited by D. Firestone). AOCS Press, 2009. Method Cd 1-25 (Iodine Value).

Official Methods and Recommended Practices of the AOCS: Fats, Oils and Lipid Related Analytical Methods. 6ed. (edited by D. Firestone). AOCS Press, 2009. Method Cd 8-53 (Peroxide Value, Acetic Acid-Chloroform).

OLTHOF, M. R.; HOLLMAN, P. C. H.; KATAN, M. Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *Hum. Nutr. Metabol.* v. 131, n. 1, p.66-71. Jan. 2001.

PAZDZIOCH-CZUCHRA, M. AND WIDENSKA, A.; Spectrofluorimetric determination of hydrogen peroxide scavenging activity. *Anal. Chim. Acta*. v. 452, p. 177- 1784, July/ Sept., 2002.

QUINTELLA, C. M.; TEIXEIRA, L. S. G.; KORN, M. G. A; COSTA-NETO, P. R.; TORRES, E. A.; CASTRO, M. P.; JESUS, C. A. C. Cadeia do biodiesel da bancada à indústria: uma visão geral com prospecção de tarefas e oportunidades para P&D&I. *Química Nova*. v. 32, n. 3, p. 793- 808, mar. 2009.

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

REINKE, R. A.; KING, P. J.; VICTORIA, J. G.; MCDUGALL, B. R.; MA, G.; MAO, Y.; REINECKE, M.G.; ROBISON, W. E. JR. Dicaffeoyltartaric Acid Analogues Inhibit Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Integrase and HIV-1 Replication at Nontoxic Concentrations. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 45, n. 17, p. 3669-3683, July, 2002.

RIABI, S.; GANJALI, M. R.; KHAJEHSHARIFI, H.; NOROUZI, P.; TAGHIPOOR, S. Theoretical and Experimental Studies on Some Anticancer derivatives: Electrochemical investigation. *Int. J. Electrochem. Sci*. v. 4, n. 1, 122 -133, 2009.

Sarah Soares Damasceno

RODRIGUES FILHO, M. G. *Cardanol e Eugenol Modificados- Uso como Antioxidantes no Controle Oxidativo do Biodiesel Etílico de Algodão*. 121f. 2010. Tese (Doutorado em Química)- Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2010.

RODRIGUES FILHO, M. G.; SOUZA, A. G.; SANTOS, I. M. G.; BICUDO, T. C.; SILVA, F. S. M.; SINFRÔNIO, F. S. M.; VASCONCELOS, A. F. F. Antioxidative properties of hydrogenated cardanol for cotton biodiesel by PDSC and UV/VIS. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. v. 97, n. 2, p. 605-609, 2009.

ROBBINS, R. J.; Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. v. 51, n. 10, p. 2866- 2887, Apr. 2003.

SANTOS, N. A.; DAMASCENO, S. S.; ARAÚJO, P. H. M.; MARQUES, V. C.; ROSENHAIM, R.; VALTER JUNIOR, V. J.; QUEIROZ, N.; SANTOS, I. M. G.; MAIA, A. S.; SOUZA, A. G. Caffeic Acid: An Efficient Antioxidant for Soybean Biodiesel Contaminated with Metals. *Energy Fuel*, v. 25, n. 1, p. 4190-4194, August. 2011.

SCHAICH, K. M. *Industrial Oil and Fat Products*, 6. ed. New York: John Wiley and Sons, 2005.

SILVA, R. B.; LIMA-NETO, A. F.; SANTOS, L. S. S.; LIMA, J. R. O.; CHAVES, M. H.; SANTOS-JUNIOR, J. R.; LIMA, G. M.; MOURA, E. M.; MOURA, C. V. R. Catalysts of Cu(II) and Co(II) ions adsorbed in chitosan used in transesterification of soy bean and babassu oils – A new route for biodiesel syntheses. *Bioresource Technology*. v. 99, n. 1, p. 6793–6798, Apr. 2008.

SUN WATERHOUSE, D.; THAKORLAL, J.; ZHOU, J. Effects of added phenolics on the storage stability of avocado and coconut oils. *International Journal of Food Science and Technology*. v. 46, n. 8, p. 1575-1585, Aug. 2011.

SOARES, S. E. Ácidos Fenólicos como Antioxidante. *Revista Nutrição*. v. 15, n. 1, p. 71-81, jan./abr. 2002.

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

TAPIERO, H.; TEW, K. D.; NGUYEN BA, G.; MATHÉ, G.; Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies? *Biomed Pharmacother*. v. 56, p. 200- 2007, Feb. 2002.

Sarah Soares Damasceno

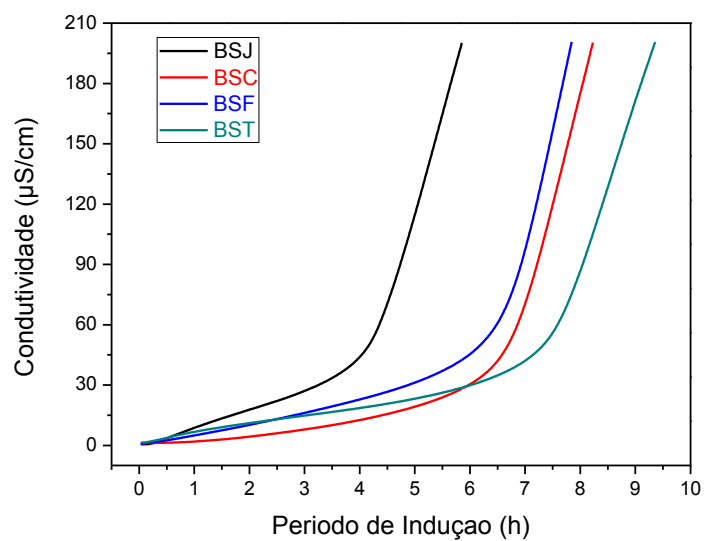
TONHI, E.; COLLINS, K. E.; JARDIM, I. C. S. F.; COLLINS, C. H. Fases estacionárias para cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (CLAE-FR) baseadas em superfícies de óxidos inorgânicos funcionalizados. *Quim. Nova*, v. 25, n. 4, p. 616-623, 2002.

VANBESIEN, E.; MARQUES, M. P. M. Ab initio conformational study of caffeic acid. *Journal of Molecular Structure (Theochem)* v. 625, p. 265-275, Jan. 2003.

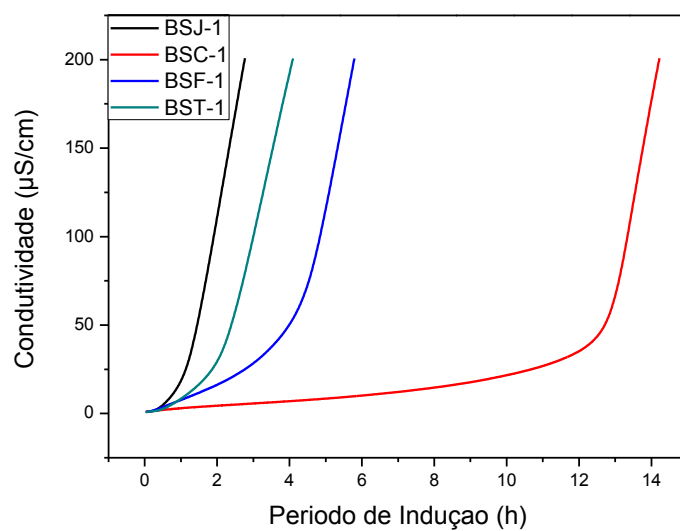
VIGNA, C. R. M. *Tratamento térmico na Imobilização de Fases Estacionárias para Cromatografia Líquida de Alta Eficiência*. 2004. 103 f. Dissertação (Mestrado em Química)-Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas 2004.

ZUPFER, J. M.; CHURCHILL, K. E.; RASMUSSEN, D. C.; FULCHER, R. G. Variation in ferulic acid concentration among diverse barley cultivars measured by HPLC and microspectrophotometry. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. v. 46, n. 4, p. 1350-1354, Mar. 1998.

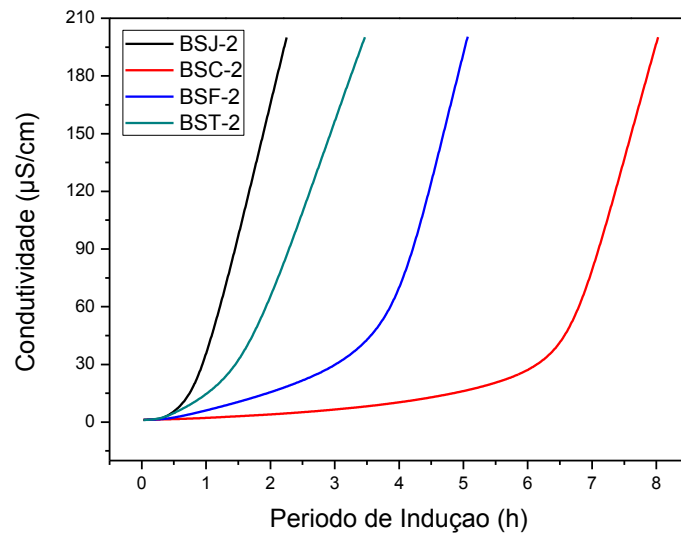
APÊNDICE



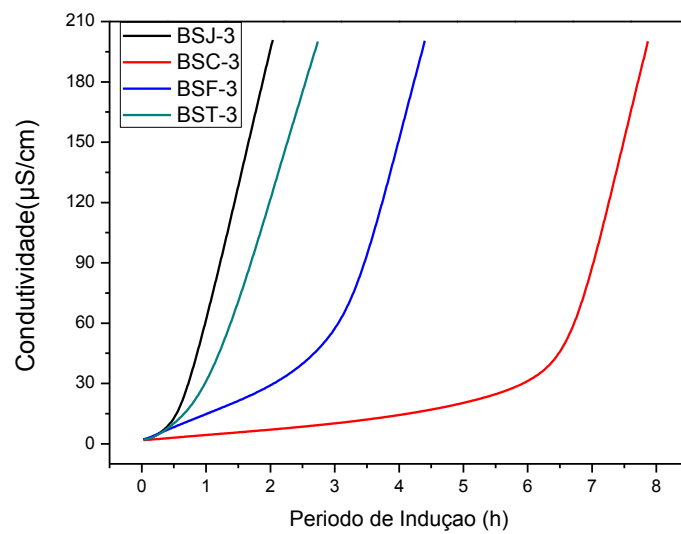
Apêndice A. Valores de período de indução (PI) obtidos pelo método Rancimat no tempo inicial.



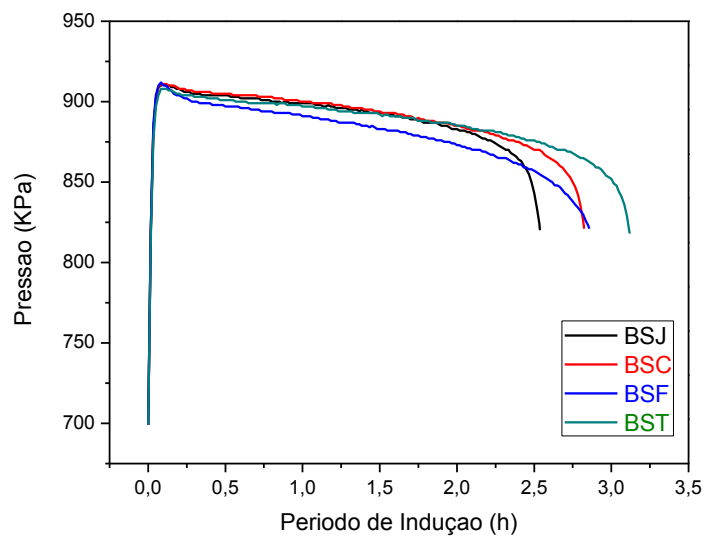
Apêndice B. Valores de período de indução (PI) obtidos pelo método Rancimat no T1 (30 dias).



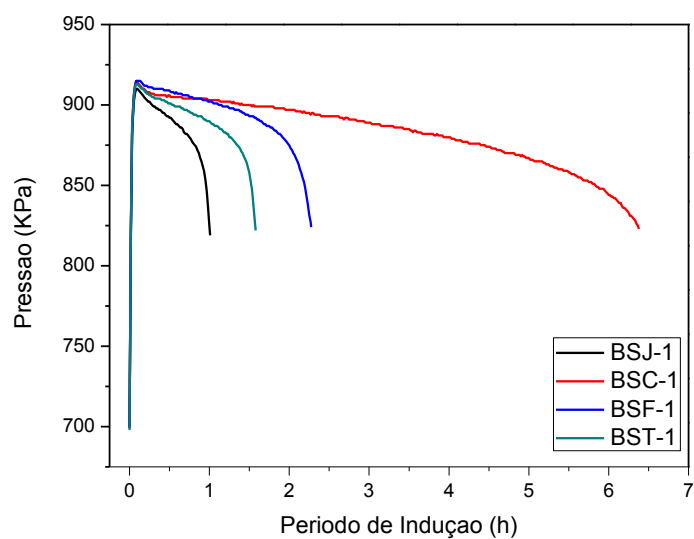
Apêndice C. Valores de período de indução (PI) obtidos pelo método Rancimat no T2 (60 dias).



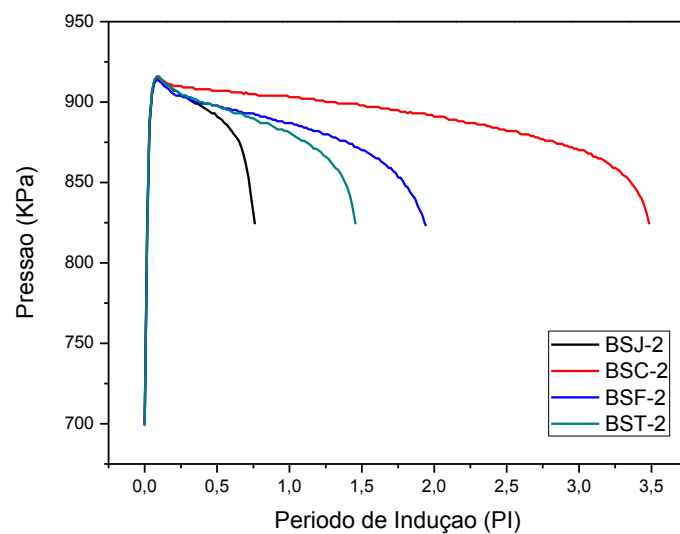
Apêndice D. Valores de período de indução (PI) obtidos pelo método Rancimat no T3 (90 dias).



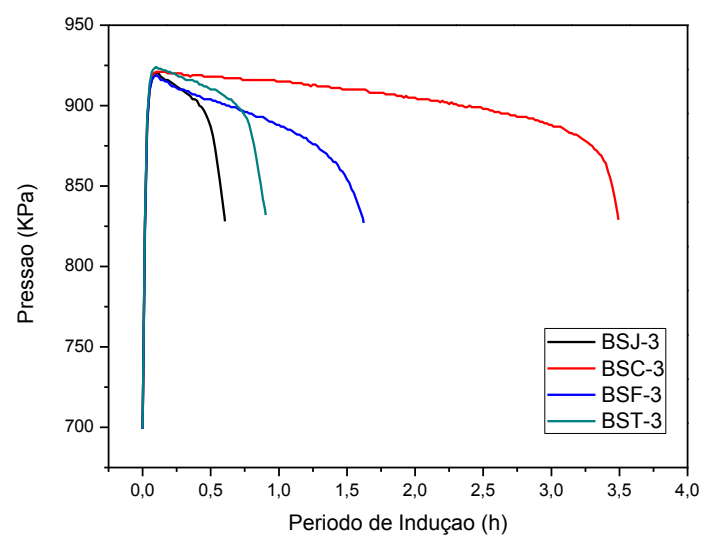
Apêndice E. Valores de período de indução (PI) obtidos pelo método PetroOXY no tempo inicial.



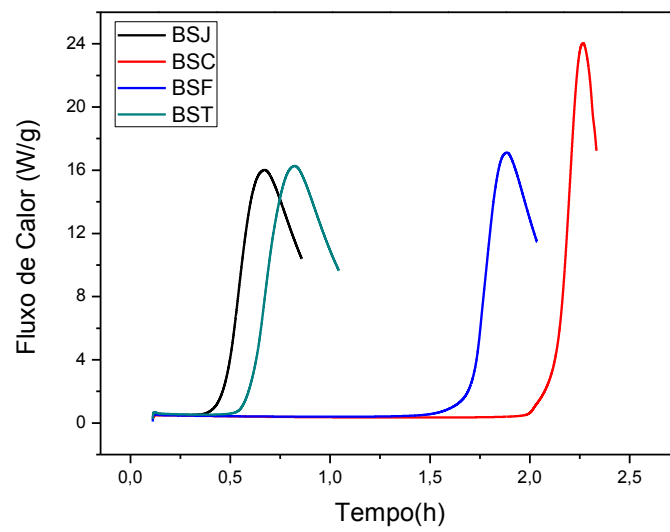
Apêndice F. Valores de período de indução (PI) obtidos pelo método PetroOXY no T1 (30 dias).



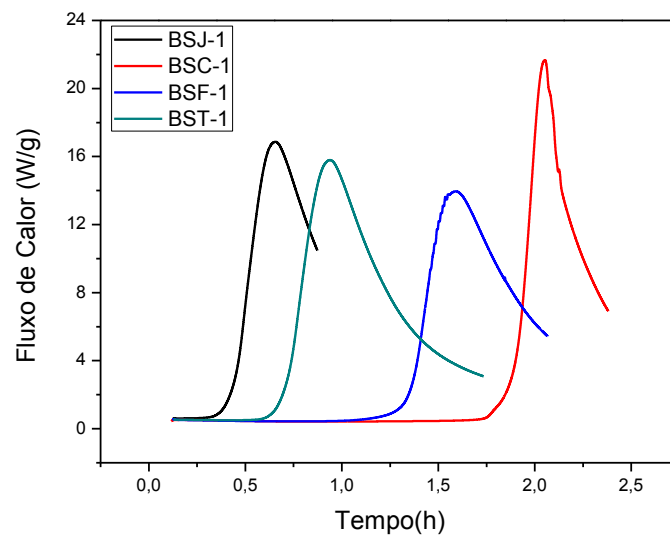
Apêndice G. Valores de período de indução (PI) obtidos pelo método PetroOXY no T2 (60 dias).



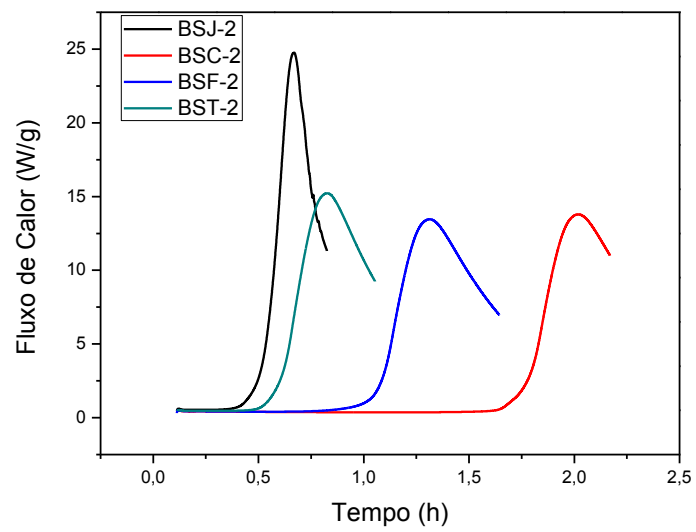
Apêndice H. Valores de período de indução (PI) obtidos pelo método PetroOXY no T3 (90 dias).



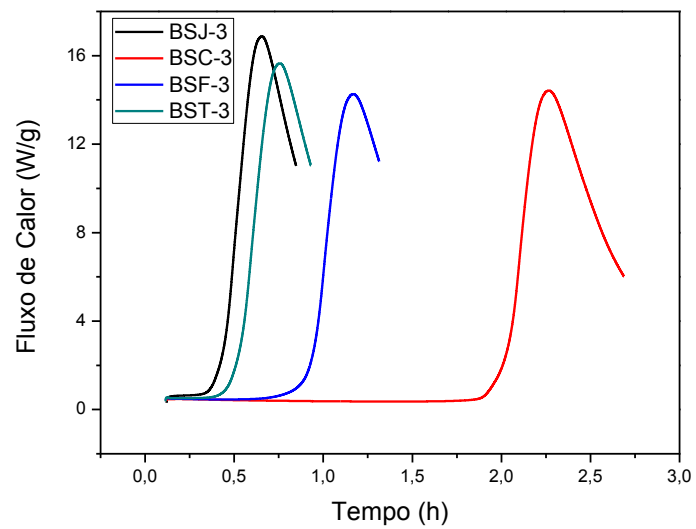
Apêndice I. Valores de período de tempo de indução oxidativa (OIT) no tempo inicial.



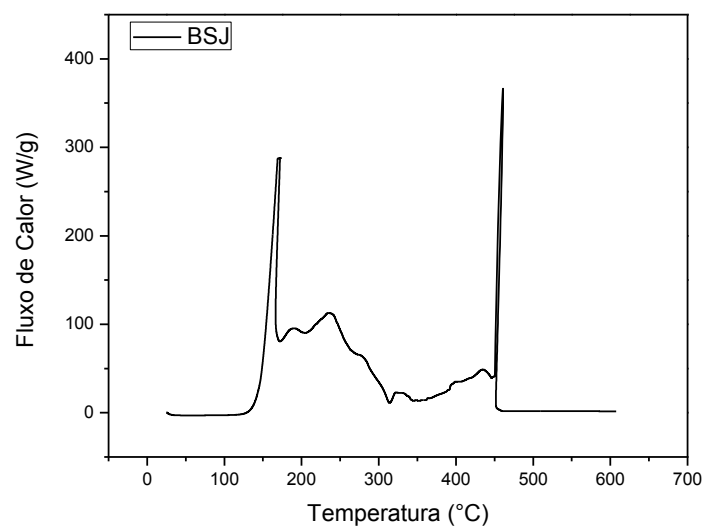
Apêndice J. Valores de período de tempo de indução oxidativa (OIT) no T1 (30 dias).



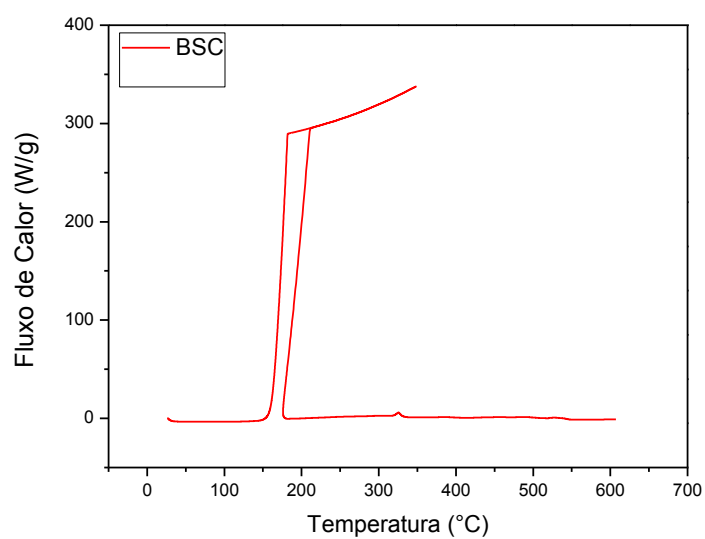
Apêndice K. Valores de período de tempo de indução oxidativa (OIT) no T2 (60 dias).



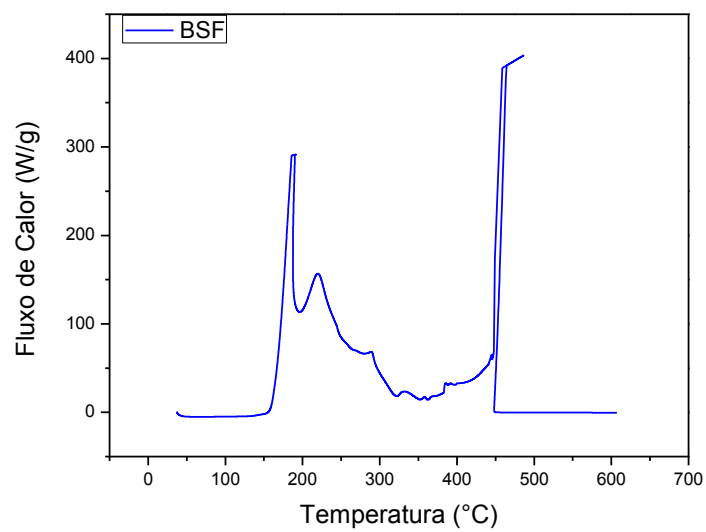
Apêndice L. Valores de período de tempo de indução oxidativa (OIT) no T3 (90 dias).



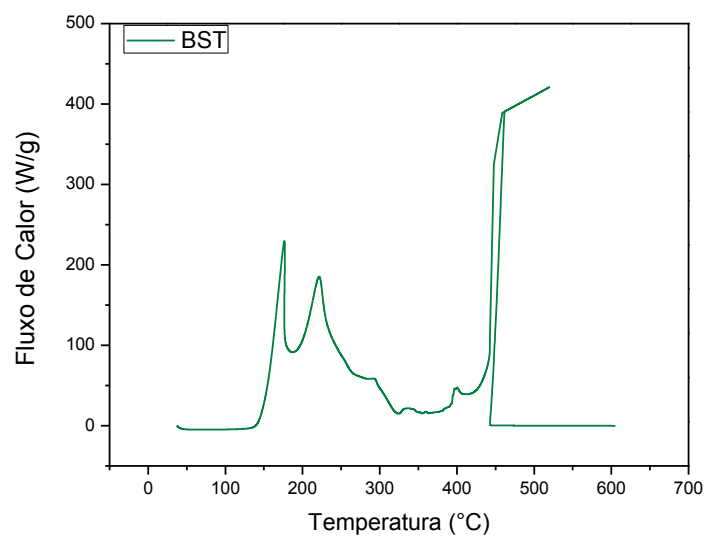
Apêndice M. Curvas não isotérmicas do biodiesel de soja (BSJ)



Apêndice N. Curvas não isotérmicas do biodiesel de soja aditivado com ácido caféico (BSC)



Apêndice O. Curvas não isotérmicas do biodiesel de soja aditivado com ácido ferúlico (BSF)



Apêndice P. Curvas não isotérmicas do biodiesel de soja aditivado com TBHQ (BST)