

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

NAYANA CRISTINA DA SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE ADITIVO ANTIOXIDANTE PARA O BIODIESEL A
PARTIR DE TANINOS**

CURITIBA
2015

NAYANA CRISTINA DA SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE ADITIVO ANTIOXIDANTE PARA O BIODIESEL A
PARTIR DE TANINOS**

Dissertação apresentada ao curso de Pós –
Graduação em Engenharia Química,
Departamento de Engenharia Química, Setor
de Tecnologia, Universidade Federal do
Paraná, como parte integrante das exigências
para obtenção do título de mestre.

Orientador: Carlos Itsuo Yamamoto

Co-orientador: Antônio Salvio Mangrich

CURITIBA
2015

S586d

Silva, Nayana Cristina da
Desenvolvimento de aditivo antioxidante para o biodiesel a partir de
taninos/ Nayana Cristina da Silva. – Curitiba, 2015.
98 f. : il. color. ; 30 cm.

Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia,
Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, 2015.

Orientador: Carlos Itsuo Yamamoto – Co-orientador: Antônio Salvio
Mangrich.

Bibliografia: p. 86-98.

1. Biodiesel. 2. Antioxidantes. 3. Taninos - Testes. I. Universidade Federal
do Paraná. II. Yamamoto, Carlos Itsuo. III. Mangrich, Antônio Salvio. IV.
Título.


CDD: 665.37




ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Aos dezenove dias do mês de fevereiro de 2015, no Auditório Inferior do Prédio da Engenharia Química no Centro Politécnico – UFPR foi instalada pelo Dr. Carlos Itsuo Yamamoto, professor do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, a Banca Examinadora para a septuagésima defesa de dissertação de mestrado na área de concentração: Desenvolvimento de Processos Químicos. Estiveram presentes no ato, professores, alunos e visitantes. A Banca Examinadora, atendendo à determinação do colegiado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, foi constituída pelos professores doutores: Carlos Itsuo Yamamoto (PPGEQ/UFPR), Rafael Bruno Vieira (PPGEQ/UFPR) e Edesio Luiz Simionatto (DQ/FURB). Às 13h30min, a banca iniciou os trabalhos, convidando a candidata **Nayana Cristina da Silva** a fazer a apresentação da dissertação de mestrado intitulada “*Desenvolvimento de aditivo antioxidante para o biodiesel a partir de taninos*”. Encerrada a apresentação, iniciou-se a fase de arguição pelos membros participantes. Tendo em vista a dissertação e a arguição, a banca decidiu pela APROVAÇÃO da candidata, (de acordo com a determinação dos artigos 68º e 69º da Resolução 65/09 – CEPE/UFPR de 30.10.2009).

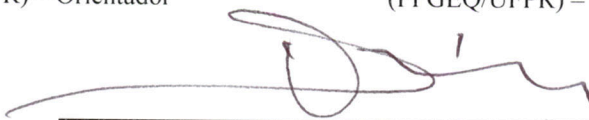
Curitiba, 19 de fevereiro de 2015.



Prof. Dr. Carlos Itsuo Yamamoto
(PPGEQ/UFPR) – Orientador



Prof. Dr. Rafael Bruno Vieira
(PPGEQ/UFPR) – Membro Titular Interno



Prof. Dr. Edesio Luiz Simionatto
(DQ/FURB) – Membro Titular Externo

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus, pela vida, por todo amor e proteção em toda minha jornada.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho. Em especial expresso minha gratidão as seguintes pessoas:

Ao Prof. Dr. Carlos Itsuo Yamamoto pela orientação, oportunidade, confiança e incentivo durante a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Antônio Salvio Mangrich pela co-orientação, incentivo, acolhimento em seu laboratório e por está sempre presente em toda esta caminhada.

Aos meus pais, Manoel Silva e Laurenir da Silva dos quais desde pequena me ensinaram a ter responsabilidade, a estudar e acima de tudo a não ter medo de enfrentar as dificuldades.

Ao meu companheiro, Felipe Danilo por todo carinho, amor e apoio que me deu, desde o começo, sempre me fazendo continuar, apesar das diversidades das situações.

A Antônia, pessoa que me acolheu em sua casa com todo carinho de uma mãe.

A minha prima, Claudecy Silva pelo imenso apoio e palavras de conforto durante toda vida, ainda mais nesta jornada.

Ao Prof. Dr. Papa Matar pela oportunidade e apoio no começo da dissertação.

Ao Prof. Dr. Ronny Rocha Ribeiro pela ajuda na realização dos ensaios em EPR.

Aos funcionários do LACAUT, os quais disponibilizaram seu tempo para ensinar-me a manusear os equipamentos, em especial a Marcia, Luara, Eduardo e Pamela.

Ao prof. Andre, por disponibilizar seu laboratório para efetuação das análises, pela ajuda e atenção durante os experimentos.

A Ivania e Cristiana por toda atenção e realização de pedidos de reagentes durante toda a dissertação.

Ao LACAUT e LABPPAM pelo suporte, disponibilização de equipamentos, espaço e material para a execução deste projeto.

Aos colegas de classes, pela imensa ajuda durante as aulas e estudo.

Aos colegas do LABPPAM, por toda ajuda no trabalho, pelas risadas que ajudaram amenizar a tensão do dia a dia.

Aos Professores e funcionários do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal do Paraná.

A Universidade Federal do Paraná.

À CAPES, pelo auxílio financeiro.

“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível. ”

Charles Chaplin

“Aprendi a não esperar as oportunidades e sim, buscá-las. ”

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - MAPA NACIONAL MOSTRANDO A OLEAGINOSA PREDOMINANTE EM CADA REGIÃO	31
FIGURA 2 - ESTRUTURA DO BIODIESEL.....	34
FIGURA 3 - PRODUÇÃO NACIONAL DE BIODIESEL - B100 (METROS CÚBICOS).....	37
FIGURA 4 - REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO.....	38
FIGURA 5 - - PERFIL CINÉTICO DA TRANSESTERIFICAÇÃO DO TRIACILGLICEROL	39
FIGURA 6 - FLUXOGRAMA DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL POR VIA ALCALINA.....	41
FIGURA 7 - EXEMPLO DE REAÇÃO DE INICIAÇÃO, COM UM INICIADOR, (I•), DE RADICAIS LIVRES, PROPAGAÇÃO E DE TERMINAÇÃO.....	42
FIGURA 8 - ESTRUTURA MOLECULAR DO ÁCIDO LINOLÉICO	43
FIGURA 9 - – ESTRUTURA MOLECULAR DO ÁCIDO LINOLÊNICO	43
FIGURA 10 - ESTRUTURA QUÍMICA DE ANTIOXIDANTES NATURAIS E SINTÉTICOS.....	47
FIGURA 11 - TIPOS DE TOCOFERÓIS	48
FIGURA 12 - EXEMPLOS DE REAÇÕES DE CAPTAÇÃO DE OXIGÊNIO E DE FORMAÇÃO DO RADICAL LIVRE SEMIQUINONA, CAPTADOR DE RL, A PARTIR DO CATECOL DA ESTRUTURA DA CATEQUINA QUE COMPÕE O TANINO.....	49
FIGURA 13 - TANINO EM PÓ.....	50
FIGURA 14 - CASCA DA ACÁCIA NEGRA (ACÁCIA MEARNsii)	52
FIGURA 15 - ESTRUTURA DE TANINOS HIDROLISÁVEIS.....	53
FIGURA 16 - EXEMPLO DE LIGAÇÃO DEPSÍDICA FORMADA ENTRE O GRUPO FENÓLICO SUPERIOR E O GRUPO INFERIOR DE UMA UNIDADE DE ÁCIDO GÁLICO	54
FIGURA 17 - ESTRUTURA QUÍMICA DE TANINOS CONDENSADOS.....	55
FIGURA 18 - ESTRUTURA DA CATEQUINA.....	56

FIGURA 19 - DESDOBRAMENTO DOS NÍVEIS DE ENERGIA DO SPIN ELETRÔNICO NA PRESENÇA DE UM CAMPO MAGNÉTICO E SINAIS REGISTRADOS COM A TRANSIÇÃO ELETRÔNICA.....	60
FIGURA 20 - APARELHO DE ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA	61
FIGURA 21 - ESQUEMA DO ESPECTRÔMETRO DE EPR UTILIZADO NA PARTE EXPERIMENTAL.....	62
FIGURA 22 - EPECTROS DE EPR MOSTRANDO O GRÁFICO RELATIVO À VARIAÇÃO NA ABSORBÂNCIA, E O DA SUA PRIMEIRA DERIVADA, MAIS COMUMENTE UTILIZADA EM ESTUDOS COM EPR	63
FIGURA 23 - ACOMPANHAMENTO DA MUDANÇA DA COLORAÇÃO NA DETERMINAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS	65
FIGURA 24 - REAÇÃO DO ÁCIDO GÁLICO COM MOLIBDÊNIO, COMPONENTE DO REAGENTE DE FOLIN-CIOCALTEU.....	66
FIGURA 25 - – ESTRUTURA DO DPPH ANTES E DEPOIS DA REAÇÃO COM O ANTIOXIDANTE (RH)	67
FIGURA 26 - ESQUEMA DO FUNCIONAMENTO DO RANCIMAT.....	68
FIGURA 27 - CURVA TÍPICA DO ENSAIO DE ESTABILIDADE OXIDATIVA .	69
FIGURA 28 - ESTRUTURA QUÍMICA DE TANINOS CONDENSADOS.....	72
FIGURA 29 - EQUIPAMENTO DE METROHOM RANCIMAT, MODELO 873 (LACAUT/UFPR).....	78
FIGURA 30 - ESQUEMA DO ENSAIO DE ESTABILIDADE À OXIDAÇÃO PELO EQUIPAMENTO RANCIMAT.....	79
FIGURA 31 - AMOSTRA BODIESEL/TANINO/BDEA PARA O PRIMEIRO TESTE NO RANCIMAT.....	82
FIGURA 32 - AMOSTRA BODIESEL/TANINO/MEA PARA O SEGUNDO TESTE NO RANCIMAT.....	82
FIGURA 33 - AMOSTRA BODIESEL/TANINO/HPA PARA O TERCEIRO TESTE NO RANCIMAT.....	83
FIGURA 34 - AMOSTRA BODIESEL/TANINO/DEA PARA O QUARTO TESTE NO RANCIMAT	83
FIGURA 35 - CONDUTIVIDADE EM FUNÇÃO DO TEMPO, GRÁFICO GERADO PELO PROGRAMA DE CONTROLE DO ENSAIO RANCIMAT	

DURANTE A AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL SEM ADITIVOS.....	84
FIGURA 36 - CONDUTIVIDADE EM FUNÇÃO DO TEMPO, GRÁFICO GERADO PELO PROGRAMA DE CONTROLE DO ENSAIO RANCIMAT DURANTE A AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL ADITIVADO COM TANINO/BDEA.	84
FIGURA 37 - CONDUTIVIDADE EM FUNÇÃO DO TEMPO, GRÁFICO GERADO PELO PROGRAMA DE CONTROLE DO ENSAIO RANCIMAT DURANTE A AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL ADITIVADO COM TANINO/MEA.	85
FIGURA 38 - CONDUTIVIDADE EM FUNÇÃO DO TEMPO, GRÁFICO GERADO PELO PROGRAMA DE CONTROLE DO ENSAIO RANCIMAT DURANTE A AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL ADITIVADO COM TANINO/DEA.....	86
FIGURA 39 - CONDUTIVIDADE EM FUNÇÃO DO TEMPO, GRÁFICO GERADO PELO PROGRAMA DE CONTROLE DO ENSAIO RANCIMAT DURANTE A AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL ADITIVADO COM TANINO/HPA.....	87
FIGURA 40 - ESTRUTURA QUÍMICA DO BDEA	88
FIGURA 41 - ESTRUTURA QUÍMICA DO DEA.....	88
FIGURA 42 - ESTRUTURA QUÍMICA DO MEA	88
FIGURA 43 - ESTRUTURA QUÍMICA DO HPA.....	88
FIGURA 44 - CURVA ANALÍTICA DE ABSORVÂNCIA DA SOLUÇÃO PADRÃO DE ÁCIDO GÁLICO	89
FIGURA 45 - CURVA ANALÍTICA DE ABSORVÂNCIA DA SOLUÇÃO PADRÃO DE ÁCIDO TÂNICO	90
FIGURA 46 - REAÇÃO DA MUDANÇA DE COR DO DPPH	91
FIGURA 47 - EQUAÇÃO BÁSICA DA REAÇÃO DO DPPH COM UM FLAVONOIDE	92
FIGURA 48 - CURVA DE DPPH X ABSORBÂNCIA.....	93
FIGURA 49 - ESQUEMA DA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL DO TANINO DA ÁCACIA NEGRA.....	95
FIGURA 50 - ESPECTRO EM EPR DE TANINO DA ACÁCIA NEGRA (SÓLIDO)	98

FIGURA 51 - ESPECTRO EM EPR DA 1E (BIODIESEL).....	98
FIGURA 52 - ESPECTRO EM EPR DA 2E (TANINO + BIODIESEL)	99
FIGURA 53 - ESPECTRO EM EPR DA 6A (BDEA + BIODIESEL)	99
FIGURA 54 - ESPECTRO EM EPR DA 6B (MEA + BIODIESEL)	100
FIGURA 55 - ESPECTRO EM EPR DA 1B (MEA + TANINO + BIODIESEL)	101
FIGURA 56 - ESPECTRO EM EPR DA 6C (DEA + BIODIESEL)	101
FIGURA 57 - ESPECTRO EM EPR DA 6D (HPA + BIODIESEL)	102
FIGURA 58 - ESPECTRO EM EPR DA 6B (MEA + BIODIESEL) DEPOIS DE 2 SEMANAS.....	103
FIGURA 59 - ESPECTRO EM EPR DA 6B (DEA + BIODIESEL) DEPOIS DE 2 SEMANAS.....	104
FIGURA 60 - ESPECTRO EM EPR DA 6D (HPA + BIODIESEL) DEPOIS DE 2 SEMANAS.....	104

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - ESPECIFICAÇÕES DO BIODIESEL E MÉTODOS UTILIZADOS NESTA DISSERTAÇÃO E CITAÇÃO DAS NORMAS SEGUIDAS.	70
TABELA 2 - MISTURAS BIODIESEL/TANINO/BDEA PARA O PRIMEIRO TESTE DE RANCIMAT	79
TABELA 3 - MISTURAS BIODIESEL/TANINO/MEA PARA O SEGUNDO TESTE DE RANCIMAT	79
TABELA 4 - MISTURAS BIODIESEL/TANINO/HPA PARA O TERCEIRO TESTE DE RANCIMAT	80
TABELA 5 - MISTURAS BIODIESEL/TANINO/DEA PARA O QUARTO TESTE DE RANCIMAT.....	80
TABELA 6 - RESULTADOS DAS PERCENTAGENS DE POLIFENÓIS TOTAIS PARA A AMOSTRA DE ACÁCIA NEGRA UTILIZANDO OS PADRÕES DE ÁCIDO GÁLICO E TÂNICO.....	91
TABELA 7 - ABSORBÂNCIA DE DPPH.....	94
TABELA 8 - ABSORBÂNCIA DE DPPH EM RELAÇÃO AO TEMPO DE ANÁLISE	94
TABELA 9 - ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS AMOSTRAS EM RELAÇÃO AO DPPH	95

LISTA DE SIGLAS

ANP	Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
AGL	Ácidos Graxos Livres
	American Society for Testing and Materials (órgão normatizador dos
ASTM	Estados Unidos)
B100	Diesel com 100% de biodiesel
BDEA	N-Butildietanolamina
DEA	Dietanolamina
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazila
DPPH [•]	Radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazila
DQ	Departamento de Química
EN	European Standards (Norma Européia)
EPR	Electron paramagnetic resonance (Ressonância Paramagnética de Eletrons)
HPA	Hidroxipropilamina
ISO	International Organization for Standardization (órgão normatizador internacional)
LACAUT _{ets}	Laboratório de Análises de Combustíveis Automotivos
MEA	Monoetanolamina
TI	Tempo de indução
UFPR	Universidade Federal do Paraná
UV-VIS	Espectroscopia no ultravioleta visível

LISTA DE SÍMBOLOS

A	Constante de acoplamento hiperfino
E	Energia magnética
g	Fator g de EPR
G	Gauss
h	Constante de Plank
I	Número de spin nuclear do átomo
IC ₅₀	Concentração do antioxidante necessária para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH
B ₀	Campo magnético externo
MI	Spin nuclear
ms	Componente magnética do elétron
N	Linhas de absorção do elétron
n	Núcleos equivalentes de uma molécula
s	Componente magnética do número quântico de spin
°C	Grau Celsius
µg	Micrograma
µL	Microlitro
µM	Micromolar

RESUMO

A oscilação do preço do petróleo bruto, que é um recurso limitado de combustíveis fósseis, e as preocupações ambientais, levaram à busca de combustíveis alternativos. O biodiesel é um combustível renovável, biodegradável e não tóxico, com características técnicas que o habilitam para substituir o diesel, mas seu notável problema técnico é por ser mais susceptível à oxidação, devido a sua reatividade quando exposto ao oxigênio presente no ar e a alta temperatura. Isso acontece, principalmente, devido à presença de um número variável de ligações duplas nas moléculas dos ácidos graxos, que compõem os ésteres de metanol ou etanol constituintes do biodiesel. Para resolver esse problema são utilizados antioxidantes, que são substâncias que quando adicionadas no biodiesel, retardam o início da oxidação e evitam a propagação da reação por eliminarem radicais orgânicos do meio e consumirem oxigênio. Este trabalho tem como proposta avaliar a atividade de um antioxidante natural, o tanino, o qual é extraído da casca da *acacia mearnsi*, para o controle do processo oxidativo do biodiesel durante seu armazenamento e uso nos tanques de combustíveis. O tanino aqui utilizado, fornecido pela Empresa TANAC de Montenegro, RS, é composto basicamente de catequina, uma molécula que contém o grupo catecol, capaz de ser oxidado na presença de oxigênio a semiquinona, um radical livre orgânico natural que pode interagir com os radicais livres do biodiesel. Posteriormente a semiquinona é oxidada a quinona consumindo mais oxigênio. O tanino é dissolvido primeiramente em aminas, para assim melhorar sua dissolução no biodiesel. Para identificar e caracterizar os compostos antioxidantes, utilizou-se o Método RANCIMAT (EN14112), equipamento que detecta o tempo da estabilidade oxidativa. Para comparar e confirmar os resultados do RANCIMAT utilizou-se a espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (EPR), a qual é capaz de detectar espécies contendo elétrons desemparelhados (radicais livres). Os resultados foram considerados bons, chegando a dobrar o tempo de estabilidade do biodiesel e, como o tanino não possui grupos nitrogenados, apresenta vantagens sobre outros antioxidantes orgânicos como os nitróxidos.

Palavras chaves: Biodiesel; Antioxidantes; Estabilidade oxidativa; Rancimat; EPR.

ABSTRACT

The oscillation crude oil prices, which are limited resources of fossil fuels, and environmental concerns have led to the search for alternative fuels. Biodiesel is a renewable, biodegradable and non-toxic fuel, with technical features that enable to replace the diesel fuel, but its remarkable technical problem is to be more susceptible to oxidation due to its reactivity when exposed to oxygen present in air and the high temperature. This is mainly due to the presence of a variable number of double bonds in fatty acid molecules, which comprise esters of methanol or ethanol biodiesel components. To resolve this problem antioxidants are used, which are substances that when added to the biodiesel delay the onset of oxidation and prevent the propagation of the reaction by means of eliminating organic radicals and consume oxygen. This work aims to evaluate the activity of a natural antioxidant, tannin, which is extracted from the bark of the acacia mearnsi for the control of oxidative process of biodiesel during storage and use in fuel tanks. The tannin used herein, provided by the Company TANAC Montenegro, RS, is basically composed of catechin, a molecule containing the catechol group, capable of being oxidized in the presence of oxygen the semiquinone, a natural organic free radical that can interact with radicals free biodiesel. Later the semiquinone is oxidized quinone consuming more oxygen. The tannin is first dissolved in amines, thus to improve its dissolution in biodiesel. To identify and characterize the antioxidant compounds used method is the Rancimat (EN14112), which device detects the time of oxidative stability. To compare and confirm the Rancimat results used the electronic paramagnetic resonance (EPR), which is able to detect species containing unpaired electrons (free radicals). The results were considered good, reaching the folding stability of biodiesel time and as the tannin has no nitrogen groups, have advantages over other antioxidants such as organic nitroxides.

Key words: Biodiesel; antioxidants; Oxidative stability; Rancimat; EPR.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	27
1.2. OBJETIVOS	29
1.2.1. OBJETIVO GERAL.....	29
1.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
2. REVISÃO BIBLIOGRAFICA	30
2.1. ÓLEOS VEGETAIS COMO ALTERNATIVA DE COMBUSTÍVEIS	30
2.1.2. PROPRIEDADES FÍSICAS DOS COMBUSTÍVEIS DE ÓLEOS VEGETAIS.....	32
2.2. BIODIESEL	34
2.2.1. BIODIESEL COMO FONTE DE ENERGIA RENOVÁVEL NO MUNDO E NO BRASIL.....	35
2.2.2. PROCESSO DE PRODUÇÃO DO BIODIESEL.....	37
2.2.3 REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO	38
2.3. OXIDAÇÃO E AUTOXIDAÇÃO DO BIODIESEL.....	41
2.4. ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL	44
2.5. ANTIOXIDANTE.....	46
2.6. TANINOS	50
2.6.1 QUÍMICA E ESTRUTURA DOS TANINOS.....	52
2.6.2. TANINOS HIDROLISÁVEIS	53
2.6.3. TANINOS CONDENSÁVEIS	54
2.6.4. CATEQUINAS.....	55
2.7. ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETÔNICA (EPR)	57
2.8. MÉTODO DE OXI-REDUÇÃO COM FORMAÇÃO DE COMPLEXO ..	63
2.8.1. METODO DO 2,2 – DIFENIL-1-PICRIL-HIDRAZILA (DPPH).....	66
2.9. ESTABILIDADE OXIDATIVA VIA RANCIMAT	67
3. MATERIAIS E MÉTODOS	70
3.1. MATERIAIS.....	70
3.1.1. CARACTERIZAÇÃO DO BIODIESEL UTILIZADO.....	70
3.1.2. COMPOSTOS ANTIOXIDANTES – TANINOS CONDENSÁVEIS	72
3.2. MÉTODOS.....	72

3.2.1. DETERMINAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS (COM ÁCIDO GÁLICO) – MÉTODO FOLIN-CIOCALTEAU.....	72
3.2.2. DETERMINAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS (COM ÁCIDO TÂNICO) – MÉTODO FOLIN-CIOCALTEAU – 760 NM	75
3.2.3. DETERMINAÇÃO DA CURVA DO DPPH• (RADICAL 1,1-DIFENIL-2-PICRILHIDRAZIL) POR ESPECTROSCOPIA DE UV-VIS.....	75
3.2.4. PODER ANTI-RADICAL	77
3.2.5. TEOR DE COMPOSTOS TANANTES	77
3.2.6. TESTE DE RACIMAT (EN 14112).....	77
3.2.7. DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO TANINO : AMINA POR ESPECTROSCOPIA DE EPR.....	80
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	81
4.1. TESTE DE RANCIMAT	81
4.2. DETERMINAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS (COM ÁCIDO GÁLICO) – MÉTODO FOLIN-CIOCALTEAU.....	89
4.3. DETERMINAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS (COM ÁCIDO TÂNICO) 90	
4.4. ESPECTROSCOPIA DE UV-VIS - MÉTODO DO 2,2 – DIFENIL-1-PICRIL-HIDRAZILA (DPPH•)	91
4.5. TEOR DE COMPOSTOS TANANTES.....	96
4.6. ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA (EPR)	96
5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS	105
5.1. CONCLUSÕES.....	105
5.2 SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS	106
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	107

1. INTRODUÇÃO

Em decorrência da crise energética mundial, intensifica-se a procura por alternativas ambientalmente corretas e sustentáveis. Dentre os combustíveis biológicos renováveis usados atualmente, destacam-se o álcool, o biodiesel, o biogás e o óleo vegetal. O uso de óleo vegetal como combustível é uma alternativa abundante e renovável, extraído de uma grande diversidade de espécies (FUCHS, 2006).

Com as sucessivas crises mundiais do petróleo, foi necessário voltar à atenção para outras fontes de energia. O óleo vegetal tornou-se uma das mais importantes opções, reconhecida principalmente na Europa. Desde 2003, na União Europeia os óleos vegetais são biocombustíveis reconhecidos e regulamentados, sendo amplamente utilizados em caminhões, ônibus, picapes, tratores, carros de passeio, barcos e geradores.

O biodiesel surgiu mundialmente como uma alternativa promissora aos combustíveis minerais, derivados do petróleo. O caráter renovável torna o produto uma fonte importante de energia de longo prazo. Mesmo o biodiesel ocupando posição proeminente no desenvolvimento de combustíveis alternativos, há problemas associados ao seu uso direto em motores do ciclo Diesel devido à possibilidade de oxidação com a formação de compostos poliméricos pesados e ácidos orgânicos leves (MEHER; SAGAR; NAIK, 2006), que provocam: (a) a ocorrência de excesso de depósitos de carbono no motor; (b) a obstrução nos filtros de óleo e bicos injetores; (c) a diluição parcial do combustível no lubrificante; e, (d) o comprometimento da durabilidade do motor, com subsequente aumento em seus custos de manutenção (KUMARATHASAN; RAJKUMAR; HUNTER, 1992).

A estabilidade oxidativa do biodiesel é deste modo de suma importância, pois, caso o biodiesel oxide rapidamente, as suas propriedades físico-químicas serão alteradas. Sabe-se que a estabilidade oxidativa está diretamente relacionada à constituição do bicomcombustível. A degradação do combustível está associada principalmente a processos de oxidação. Fatores como umidade, metal, luz e calor intensificam a formação de radicais livres e, conseqüentemente, a oxidação.

Deste modo as buscas por antioxidantes que minimizem os problemas de oxidação no uso do biodiesel estão cada vez mais em foco, possibilitando maior estabilidade oxidativa, permitindo assim que o produto possa ficar mais tempo estocado e minimizando danos aos motores.

Logo, a inserção de um antioxidante eficaz em dosagens apropriadas irá melhorar as propriedades de armazenamento do biodiesel, atendendo a especificação da Resolução 45 de 25/08/2014 da Agência Nacional de Petróleo, Gás e Biocombustíveis (ANP), bem como manter sua estabilidade por maior tempo.

Sendo assim, essa dissertação tem como objetivo estudar e avaliar a ação antioxidante do composto natural, tanino, extraído da casca da acácia negra (*Acacia mearnsii*), sendo que primeiramente o tanino é dissolvido em compostos aminados para que assim sua dissolução no biodiesel ocorra com maior facilidade.

O trabalho foi desenvolvido com auxílio de diferentes ferramentas de trabalho, como análises de qualidade do biodiesel e dos antioxidantes, e o acompanhamento da estabilidade oxidativa das amostras em função do tempo, sendo estas realizadas pelo equipamento Rancimat (teste de oxidação acelerado, norma EN 14112). Para composição da pesquisa também foram realizados os ensaios de espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (EPR), a qual detecta elétrons desemparelhados e radicais livres, e ainda a espectroscopia na região UltraVioleta-Visível (UV-Vis).

No Capítulo 1 é feita uma revisão bibliográfica percorrendo sobre óleos vegetais, biodiesel, processos de oxidação, estabilidade oxidativa e antioxidantes, além de uma rápida revisão da teoria dos métodos utilizados neste trabalho, como: EPR, UV-VIS e Rancimat.

O Capítulo 2 é dedicado à descrição dos materiais e métodos utilizados no trabalho. Primeiramente são caracterizados o biodiesel testado e os antioxidantes utilizados e, em seguida, são apresentadas as técnicas e metodologias utilizadas na avaliação da atividade antioxidante.

Os resultados obtidos e sua discussão são apresentados no Capítulo 3, e no Capítulo 4 é realizada a conclusão do trabalho.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como proposta avaliar a atividade do antioxidante natural, tanino, no controle do processo oxidativo do biodiesel de soja metílico, durante o armazenamento.

1.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar as características do antioxidante tanino, fornecido pela Empresa TANAC;
- Verificar o comportamento do antioxidante na presença de aminas;
- Definir a melhor concentração do antioxidante tanino, assim como a melhor relação tanino:amina;
- Determinar a estabilidade oxidativa do biodiesel com estes aditivos, de acordo com o Método Rancimat, segundo a norma europeia, EN 14112;
- Comparar o Método Rancimat com o Método EPR;

2. REVISÃO BIBLIOGRAFICA

2.1. ÓLEOS VEGETAIS COMO ALTERNATIVA DE COMBUSTÍVEIS

A maior parte de toda a energia consumida no mundo provém do petróleo, uma fonte limitada, finita e não renovável. A cada ano que passa, aumenta o consumo de combustíveis derivados do petróleo e, conseqüentemente, o aumento da poluição atmosférica e a ocorrência de chuvas ácidas (FERRARI; OLIVERIA; SCABIO, 2005). O consumo brasileiro de diesel, em 2014 foi de cerca de 59,887 bilhões de litros e, em 2013 o Brasil ainda importava 9,5 bilhões de litros de diesel (KAPLAN; FERRAZ; FERRAZ, 2007). Portanto, a busca por fontes alternativas de energia é de grande importância para a economia brasileira (GUARIEIRO, 2006).

Os óleos vegetais, como alternativa de combustíveis, começaram a ser estudados no fim do século XIX, por Rudolph Diesel, inventor do motor a combustão interna, sendo que estes eram usados *in natura* (MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA E DO COMÉRCIO, 1985; MINISTÉRIO DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA, 2002). Por se tratar de uma fonte de energia renovável e por seu uso sustentado não provocar danos ao meio ambiente, a biomassa tem atraído muita atenção para a preparação de combustíveis alternativos aos de petróleo (MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA E DO COMÉRCIO, 1985; MINISTÉRIO DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA, 2002; U.S. DEPARTMENT OF ENERGY. BIODIESEL RESEARCH PROGRESS, 1997). Dentre as fontes de biomassa prontamente disponíveis, os óleos vegetais têm sido largamente investigados como candidatos a programas de energia renovável, pois proporcionam geração descentralizada de energia e apoio à agricultura familiar, criando melhores condições de vida (infra-estrutura) em regiões carentes, valorizando potencialidades regionais e oferecendo alternativas a problemas econômicos e socioambientais de difícil solução.

A utilização de óleos vegetais *in natura* como combustível alternativo, tem sido alvo de diversos estudos nas últimas décadas (NAG; BHATTACHARYA; DE, 1995; PIYAPORN; JEYASHOKE; KANIT, 1996). No Brasil, já foram realizadas pesquisas com os óleos virgens de macaúba, pinhão-manso, dendê, indaiá, buriti, pequi, mamona, babaçu, cotieira, tingui e

pupunha (BARRETO, 1982; MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA E DO COMÉRCIO, 1985; SERRUYA, 1991) e nos testes realizados com esses óleos em caminhões e máquinas agrícolas, foi ultrapassada a meta de um milhão de quilômetros rodados (MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA E DO COMÉRCIO, 1985).



FIGURA 1 - MAPA NACIONAL MOSTRANDO A OLEAGINOSA PREDOMINANTE EM CADA REGIÃO
 FONTE: EDUCAÇÃO UOL, 2014

Mesmo o biodiesel ocupando posição proeminente no desenvolvimento de combustíveis alternativos, há problemas associados ao seu uso direto em motores do ciclo Diesel devido à possibilidade de oxidação com a formação de compostos poliméricos pesados e ácidos orgânicos leves (MEHER; SAGAR; NAIK, 2006), que provocam: (a) a ocorrência de excesso de depósitos de carbono no motor; (b) a obstrução nos filtros de óleo e bicos injetores; (c) a diluição parcial do combustível no lubrificante; e, (d) o comprometimento da durabilidade do motor, com subsequente aumento em seus custos de manutenção (KUCEK, 2004).

No entanto, uma simples reação de transesterificação pode resolver muitos destes problemas, melhorando a qualidade de ignição, ponto de fluidez e as propriedades de fluxo (viscosidade e densidade específica). Dessa maneira, o produto gerado é compatível ao diesel convencional e ainda apresenta as vantagens de um alto poder de lubrificidade e menor impacto ambiental.

2.1.2. PROPRIEDADES FÍSICAS DOS COMBUSTÍVEIS DE ÓLEOS VEGETAIS

Assim como o óleo diesel, o biodiesel também tem que possuir as propriedades físicas específicas para o bom funcionamento de um motor de combustão interna. De modo geral, a avaliação da qualidade de queima dos biocombustíveis requer a determinação analítica de algumas principais características, tais como: poder calorífico, número de cetano, curva de destilação, densidade, viscosidade, ponto de fulgor, e ponto de entupimento, fluidez e névoa.

O poder calorífico do óleo permite estabelecer a potência máxima a ser atingida pelo motor em operação. Existem dois tipos de poder calorífico: o superior e o inferior. O poder calorífico superior, é a quantidade de energia liberada na forma de calor, resultado de combustão completa de uma quantidade definida combustível com o ar, à pressão constante e com todos os produtos de combustão, retornando à temperatura inicial dos reagentes, sendo que, a água formada na combustão esteja no estado líquido. O poder calorífico inferior, possui o mesmo conceito, com o detalhe de que todos os produtos, inclusive a água formada na combustão, estejam no estado gasoso. Comparado ao diesel, o biodiesel apresenta inferior calor de combustão, em torno de 9500 kcal/kg, sendo que o diesel possui calor de combustão por volta de 10800 kcal/kg.

O número de cetano define o poder de autoinflamação do combustível e seu valor está diretamente relacionado com o desempenho global do motor, refletindo-se de modo especial na partida a frio, no ruído e no gradiente de pressão no interior da câmara de combustão. Quanto maior for o número de cetano, menor será o retardo de ignição e, por conseguinte, melhor será sua capacidade de incendiar-se.

A curva de destilação fornece informações sobre a volatilidade dos componentes do combustível. Ao contrário do biodiesel, o óleo diesel possui distribuição de temperaturas mais ampla, podendo finalizar em temperaturas da ordem de 400 °C. O biodiesel de estrutura predominantemente insaturada apresenta decomposição térmica que se inicia em temperaturas próximas a 250 °C. A presença de polímeros dos ésteres gera temperaturas finais de

destilação muito elevadas, além de aumentar o nível de fumaça ou de promover a diluição do lubrificante. A viscosidade é a medida da resistência interna oferecida ao escoamento de um líquido. Constitui-se de uma importante propriedade do biodiesel que influencia no mecanismo de pulverização do combustível gerando distribuição de tamanho de gotas mais ampla afetando, por isso, o funcionamento do sistema de injeção e refletindo no processo de combustão, de cuja eficiência dependerá a potência máxima desenvolvida.

Outra característica física dos combustíveis é o ponto de fluidez. O ponto de fluidez é a temperatura na qual o combustível passa a fluir por um filtro, depois de estar congelado. Tal efeito impede a partida do motor, sobretudo, quando o motor é acionado sob condições de baixa temperatura. Para evitar a solidificação do óleo, mesmo parcial, deve-se proceder ao seu pré-aquecimento.

O ponto de fulgor determina o grau de volatilidade do combustível. É a menor temperatura na qual o combustível gera uma quantidade de vapores, que misturados com o ar, torna-se inflamável quando aplicado uma chama. Essa informação baliza o manuseio durante o transporte e uso do combustível de forma segura.

Ainda dentro das propriedades importantes dos combustíveis, o resíduo de carbono, a densidade, o ponto de névoa são especificados como:

- Resíduo de Carbono, é a quantidade de depósito deixado na câmara de combustão, isto é, o teor do resíduo obtido após a evaporação das frações voláteis do óleo submetido a um aquecimento. Esse resíduo pode gerar borra na câmara de combustão;

- Ponto de névoa é a menor temperatura onde se pode observar visualmente uma turvação no combustível pela solidificação de parafinas. Essa temperatura deve estar abaixo da menor temperatura média ambiente para evitar o risco de solidificação do combustível, dificultando assim a partida do motor;

- A densidade, ou massa específica, está relacionada de forma geral com a qualidade do combustível e principalmente para o transporte e movimentação do combustível nos tanques. Ela depende bastante da temperatura e afeta o volume comercializado de combustível.

2.2. BIODIESEL

O biodiesel surgiu mundialmente como uma alternativa promissora aos combustíveis minerais, derivados do petróleo. O caráter renovável torna o produto uma fonte importante de energia em longo prazo.

A partir da década de 1980, quando sucessivas crises conjunturais ou estruturais fizeram com que pesquisadores e governantes se voltassem para a procura de alternativas renováveis para substituir o petróleo, o biodiesel surge como alternativa viável ao diesel. Logo, o uso de biodiesel como combustível vem crescendo aceleradamente no mundo inteiro, pois a cadeia de produção deste combustível tem potencial promissor em vários setores, tais como social, ambiental e tecnológico.

Biodiesel é definido como um mono-álquil-éster, derivado de óleo vegetal ou gordura animal, conforme especificação ASTM D6751, para uso em motores diesel, o qual refere-se ao combustível puro ou misturado com diesel, denotado “BXX”, onde o XX representa a percentagem de biodiesel nessa mistura (por exemplo: B20 constitui de 20% biodiesel e 80% diesel) e de acordo com a Resolução N°42/2004 da ANP (Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis), o biodiesel é definido como: “Combustível composto de álquil ésteres de ácidos graxos de cadeia longa, oriundos de óleos vegetais ou gorduras animais, designado B100, conforme a especificação contida no Regulamento Técnico n° 4/2004”.

O éster metílico de ácido graxo, ou biodiesel, é formado a partir de uma reação química, composto por moléculas carbono, oxigênio, hidrogênio (FIGURA 2).

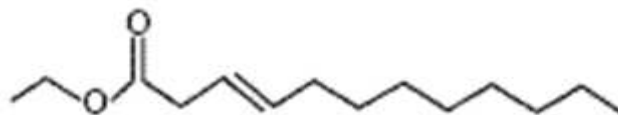


FIGURA 2 - ESTRUTURA DO BIODIESEL

É um combustível alternativo de queima limpa, produzido de recursos renováveis, não contém petróleo, mas pode ser adicionado a ele formando uma mistura. Pode ser usada num motor de ignição a compressão (diesel) sem

necessidade de modificação. Não é tóxico, essencialmente livre de compostos sulfurados e aromáticos (PARENTE, 2003). Suas principais desvantagens incluem baixo ponto de fluidez e manter a estabilidade do combustível durante o armazenamento de longo prazo (DUNN, 2008; DUNN, 2002).

2.2.1. BIODIESEL COMO FONTE DE ENERGIA RENOVÁVEL NO MUNDO E NO BRASIL

Os biocombustíveis vêm sendo testados atualmente em várias partes do mundo. Países como Argentina, Estados Unidos, Malásia, Alemanha, França e Itália já produzem biodiesel comercialmente, estimulando o desenvolvimento de escala industrial.

No início dos anos 1990, o processo de industrialização do biodiesel foi iniciado na Europa. No final de 2005, a Europa produziu 3,1 milhões de toneladas de biodiesel, 64% a mais que o produzido no ano anterior. O direcionamento do programa de biodiesel da União Europeia objetiva a substituição de 2% do diesel usado para transportes em 2005; 5,75% em 2010, e 20% em 2020.

No mercado internacional o biodiesel produzido tem sido usado em: veículos de passeio, transporte de estrada e off road, frotas cativas, transporte público e geração de eletricidade.

A Arábia Saudita permaneceu como maior produtor mundial de petróleo em 2013, com volume médio de 11,5 milhões de barris/dia (13,3% do total mundial), apesar da redução de 0,9% em relação a 2012. A Rússia ocupou o segundo lugar no ranking, com produção média de 10,8 milhões de barris/dia (12,4% do total mundial), um acréscimo de 1,36% ante 2012. Em seguida vieram Estados Unidos (11,5% do total mundial), China (4,8% do total mundial) e Canadá (4,5% do total mundial).

O Brasil se situou na 13ª posição, após decréscimo de 1,9% no volume de óleo produzido, totalizando 2,1 milhões de barris/dia (2,5% do total mundial).

Na América do Sul, além do Brasil, Argentina e Colômbia também estabeleceram percentuais mínimos de adição de biodiesel. Na Colômbia, o plano é plantar 2 milhões de hectares de dendê até 2020. Na Argentina, os investimentos recentes aumentaram rapidamente a capacidade de produção,

que em 2010, estima-se, pode chegar a 3,4 bilhões de litros, extraídos principalmente da soja. Mas o mercado interno ainda não é o alvo do país, que se concentra em exportar o combustível produzido (BIODIESELBR, 2014).

Já o Brasil tem em sua geografia grandes vantagens agrônômicas, por se situar em uma região tropical, com altas taxas de luminosidade e temperaturas médias anuais, que de acordo com a região podem apresentar-se abaixo de 20°C (Sudeste e Sul) ou ainda superiores a 25°C (Norte e Nordeste). Associada à disponibilidade hídrica e regularidade de chuvas, torna-se o país com maior potencial para produção de energia renovável (BIODIESELBR, 2014).

Na década de 1940, ocorreu uma das primeiras tentativas de aproveitamento energético dos óleos e gorduras em motores à combustão interna (SOAREZ; MENEGHETTI, 2007). Entretanto, o governo brasileiro só deu o primeiro passo para regularizar a comercialização do biodiesel no país em setembro de 2004, com a Medida Provisória Nº 214 e em dezembro do mesmo ano, através da Resolução ANP Nº42/2004 autorizou a adicionar ao óleo diesel de 2% de biodiesel em volume. O mercado de biodiesel no Brasil foi aquecido, e em 2006, com o incentivo do governo, através das compras de combustíveis (Biodiesel) via Leilão da Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (PRATES; PIEROBON, 2007).

O Brasil é um dos quatros maiores produtores de biodiesel do mundo, e tem apresentado um ritmo crescente em sua produção, produzindo, até maio de 2014, mais de 89,631 bilhão de litros de biodiesel (ANP, 2011).

O crescimento da produção de biodiesel no Brasil segue a tendência de elevação do consumo de diesel B7 (mistura composta por 93% de diesel A com 7% de biodiesel). A (FIGURA 3) mostra a Produção Nacional de Biodiesel Puro (BIODIESELBR, 2014).

Neste nível de penetração de mercado, o biodiesel pode ser usado em frotas de ônibus e caminhões pesados, navios, construção e máquinas agrícolas, aquecimento residencial, e geração de energia elétrica.

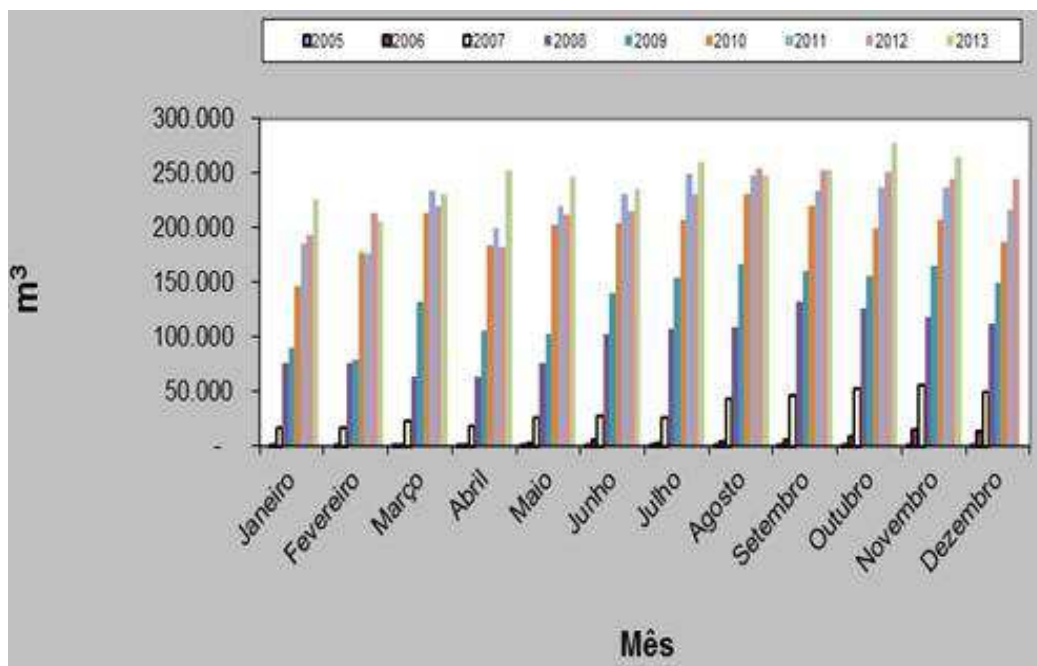


FIGURA 3 - PRODUÇÃO NACIONAL DE BIODIESEL - B100 (METROS CÚBICOS)
 FONTE: (BIODIESELBR, 2014)

2.2.2. PROCESSO DE PRODUÇÃO DO BIODIESEL

O processo mais utilizado, atualmente, para a produção de biodiesel é a transesterificação, que consiste numa reação química dos óleos vegetais ou gorduras animais com o álcool comum (etanol ou o metanol), estimulada por um catalisador (hidróxido de sódio ou de potássio), da qual também se produz a glicerina, produto com diversas aplicações na indústria química. O biodiesel de qualidade deve ser produzido seguindo especificações industriais restritas, conforme a Resolução 45 de 25/08/2014 da Agência Nacional de Petróleo, Gás e Biocombustíveis (ANP). Nos EUA, o biodiesel é o único combustível alternativo a obter completa aprovação no Clean Air Act (1990) e autorizado pela Agência Ambiental Americana (EPA) para venda e distribuição. Os óleos vegetais puros não estão autorizados a serem utilizados como óleo combustível.

O metanol é o álcool predominantemente utilizado em todo mundo para a produção de ésteres de ácidos graxos para o uso como biodiesel. A razão para esta escolha se deve ao fato de que o metanol é de longe o mais barato dos álcoois na maioria dos países. Nos Estados Unidos, o metanol é 50% mais barato do que o etanol, seu competidor mais próximo. No Brasil a

disponibilidade de matéria-prima e tecnologia permite a produção economicamente viável de etanol por processos fermentativos, resultando em um produto que é mais barato que o metanol (KNOTHE; DUNN, 2002).

A escolha do catalisador também é um fator importante. O rendimento do hidróxido de sódio (NaOH) é melhor do que o do hidróxido de potássio (KOH), quanto ao tempo de dissolução com o álcool. No entanto, durante a separação do produto final do glicerol, o KOH se apresentou mais conveniente, mas devido o KOH gerar muito sabão, principalmente com etanol, o NaOH é o catalisador preferido sobre o KOH na aplicação industrial (SHARMA; SINGH, 2008).

A fase mais pesada do biodiesel é composta por glicerinas brutas, impregnadas dos excessos utilizados do álcool, de água e de impurezas inerentes ao óleo. A fase menos densa é constituída de uma mistura de ésteres metílicos e/ou etílicos, conforme a natureza do álcool originalmente adotado, também impregnado de excessos reacionais de álcool e de impurezas do óleo (ALBURQUERQUE, 2006). Após a separação das fases, a glicerina bruta e a fase dos ésteres (biodiesel) são submetidas a um processo de destilação para retirada do álcool em excesso. Os ésteres são purificados pelo processo de lavagem e desumidificação e o produto é conhecido como Biodiesel.

2.2.3 REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO

Atualmente, das tecnologias disponíveis para a produção de biodiesel, o processo de transesterificação é o mais empregado. Consiste na reação de um mol de triacilglicerol para três mols de álcool, em presença de um catalisador ácido ou básico, com excesso de álcool para garantir uma conversão superior a 95% (VAN et al., 2004; MEHER; SAGAR; NAIK, 2006).

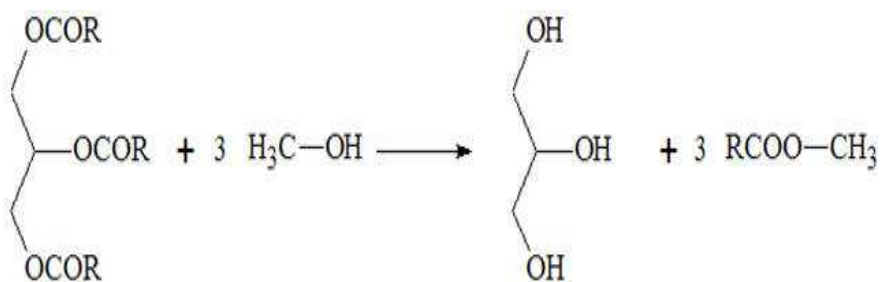


FIGURA 4 - REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO
 FONTE: (EBAH, 2014)

Transesterificação ou alcoólise é o deslocamento do álcool a partir de um éster de álcool por outro álcool, semelhante ao processo da hidrólise quando o álcool é usado no lugar de água (OTERA, 1993; MA; HANNA, 1999; SRIVASTAVA; PRASAD, 2000; ANASTOPOULOS et al., 2009).

Os catalisadores básicos, normalmente bases fortes como NaOH e KOH, possuem as vantagens de acelerar o processo de transesterificação e são os mais utilizados por serem de fácil manuseio, mais acessíveis e menos corrosivos. Os catalisadores ácidos, usualmente ácidos fortes como HCl, H_2SO_4 e ácidos sulfônicos, têm a vantagem de possibilitar reações de esterificação e transesterificação ao mesmo tempo, como também não promovem o processo de saponificação como acontece com as bases. Entretanto, quando comparados com os catalisadores básicos, o processo se torna mais lento, pois as condições reacionais usadas, como temperatura (100 °C), tempo (3 horas) e a razão molar álcool:triacilglicerol (30:1) são mais severas (SCHUCHARDT; SERCHEL; VARGAS, 1998; MEHER; SAGAR; NAIK, 2006; SRIVASTAVA; PRASAD, 2000; SILVA, 2008).

A conversão do monoacilglicerol em éster metílico ou etílico constitui uma etapa lenta da reação. O perfil cinético típico da transesterificação de um triacilglicerol em termos das concentrações de mono- e diacilglicerol, e biodiesel é apresentado na (FIGURA 5) (KNOTHE; DUNN, 2001).



FIGURA 5 - - PERFIL CINÉTICO DA TRANSESTERIFICAÇÃO DO TRIACILGLICEROL
FONTE: RINALD; GARCIA; MARCINIUK; ROSSI, 2007

Para a transesterificação proporcionar rendimentos máximos, o álcool deve ser livre de umidade e o conteúdo de ácidos graxos livres (AGL) do óleo vegetal deve ser inferior a 0,5%.

2.2.3.1 PROCESSO DE TRANSESTERIFICAÇÃO POR CATÁLISE

Catálise básica

A catálise básica é um processo utilizado quando a quantidade de ácidos graxos livres encontrada no triglicerídeo empregado possui baixo teor (menor que 3%), pois com percentagens elevadas de AGL, haveriam reações de saponificação, diminuindo a eficiência da conversão. As bases empregadas neste processo podem ser o hidróxido de sódio (NaOH) ou de potássio (KOH), numa razão molar variando de 1:1 a 6:1 em relação ao álcool empregado.

As especificações para que uma melhor conversão seja alcançada neste processo, são que a temperatura de operação varie aproximadamente de 60 a 70 °C e que a quantidade de catalisador na mistura encontre-se em um limite de 0.5 a 1.0 % , pois um excesso de catalisador pode gerar uma quantidade indesejada de água, a qual favorece a reação de saponificação, formando sabões que reduziriam a eficiência do catalisador e aumentariam a viscosidade, dificultando a separação do glicerol. Seguindo este raciocínio deve-se utilizar uma matéria-prima anidra.

Este processo, demonstrado em forma de fluxograma na (FIGURA 6), é um dos mais empregados industrialmente devido ao baixo custo das bases utilizadas e porque é eficiente e menos corrosivo que o processo ácido, tendo somente problemas na separação do glicerol.

Catálise ácida

Quando os ésteres de glicerina possuem alto teor de ácidos graxos livres este caminho de produção de biodiesel é utilizado, como é o caso de óleos já utilizados para frituras, sendo o ácido sulfúrico usualmente empregado como catalisador.

A razão molar da matéria-prima empregada geralmente é de 30:1 em relação ao álcool, estando o limite de temperatura entre 55 a 80 °C e a fração na mistura para reação é de 0.5 a 1 % molar.

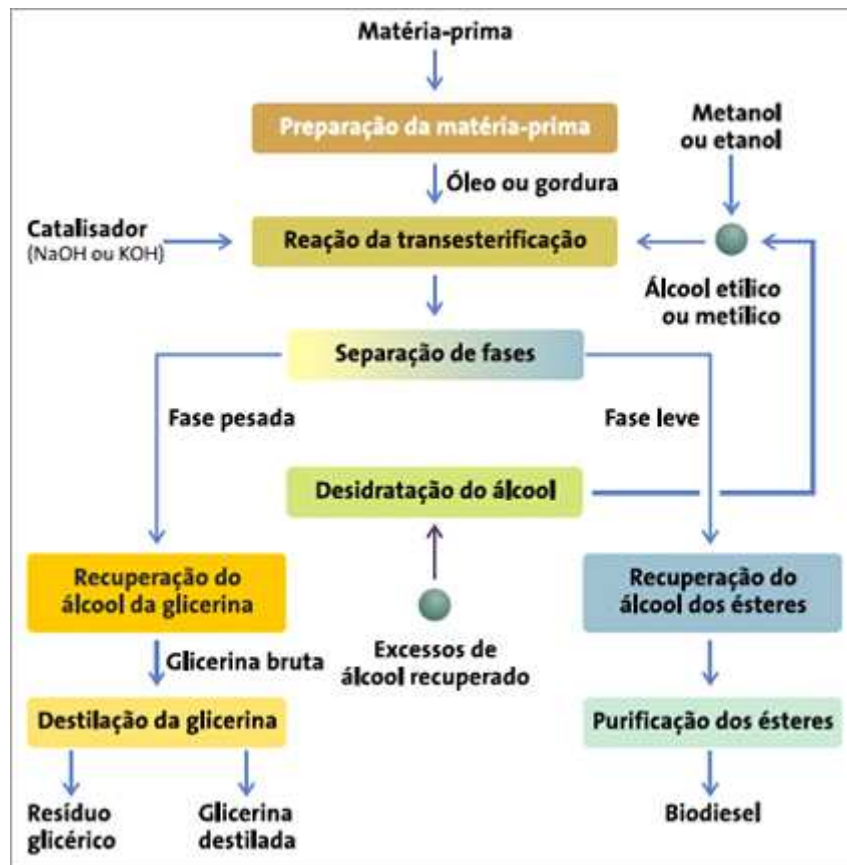


FIGURA 6 - FLUXOGRAMA DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL POR VIA ALCALINA
 FONTE: PARENTE, 2003

Esta alternativa de produção apresenta-se muito mais lenta que a via alcalina, possuindo uma conversão de aproximadamente 99%, sendo que as dificuldades para separação do glicerol serão as mesmas do processo citado acima, porém na via alcalina não há a necessidade de que a matéria-prima passe por um processo de secagem.

2.3. OXIDAÇÃO E AUTOXIDAÇÃO DO BIODIESEL

A oxidação do biodiesel começa com a remoção de um hidrogênio de um átomo de carbono, por um radical livre, $I\bullet$, para produzir um radical livre de carbono $R\bullet$ (FIGURA 7).

Se o oxigênio diatômico está presente, a reação subsequente é para formar um radical peróxido, $ROO\bullet$, de forma extremamente rápida. O radical peróxido livre não é tão reativo quanto o radical livre no átomo de carbono, mas é suficientemente reativo, para rapidamente abstrair um átomo de hidrogênio ligado a um carbono e formar outro radical livre de carbono e um peróxido

ROOH. O novo radical livre de carbono, pode reagir com o oxigênio diatômico para continuar o ciclo de propagação. Essa reação em cadeia termina quando dois radicais livres reagem um com o outro, para obter produtos estáveis e pesados que, se deixados no biodiesel, formarão depósitos no fundo dos reservatórios que entupirão tubos de combustíveis e formarão “crostas” extremamente resistentes, que interferirão em movimentos do motor e em marcadores de níveis de combustíveis nos tanques de armazenamento.

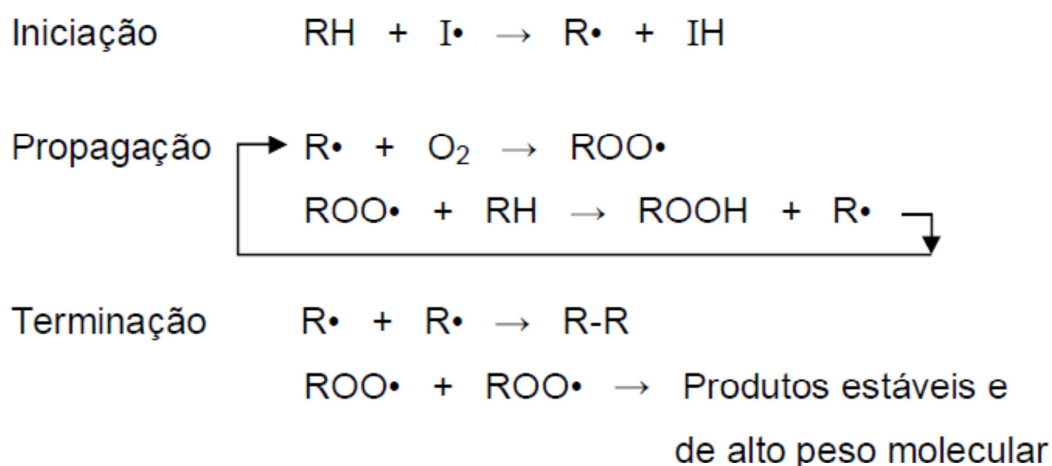


FIGURA 7 - EXEMPLO DE REAÇÃO DE INICIAÇÃO, COM UM INICIADOR, (I•), DE RADICAIS LIVRES, PROPAGAÇÃO E DE TERMINAÇÃO
 FONTE: FERRARI, 2012

Em resumo, os radicais livres são formados pela remoção do hidrogênio do carbono 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 (DAMASCENO, 2011).

O óleo de soja é um dos mais suscetíveis à oxidação, isso devido ao seu maior grau de insaturação, caracterizado pelo alto teor de estrutura derivada do ácido linoléico (FIGURA 8) e pelo teor elevado de estrutura derivada do ácido linolênico (FIGURA 9) (DAMASCENO, 2011).

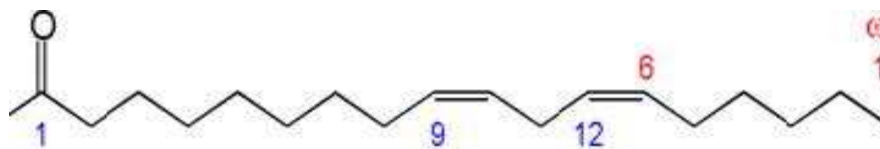


FIGURA 8 - ESTRUTURA MOLECULAR DO ÁCIDO LINOLÉICO
 FONTE: DAMASCENO, 2011

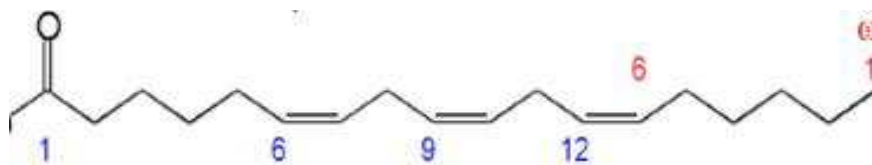


FIGURA 9 - -- ESTRUTURA MOLECULAR DO ÁCIDO LINOLÊNICO
 FONTE: DAMASCENO, 2011

O óleo vegetal refinado é um triacilglicerídeo, substância composta da reação de uma molécula de glicerina e três moléculas de ácidos graxos. As propriedades físicas e químicas de um óleo estão relacionadas, principalmente, com o comprimento da cadeia carbônica e o seu grau de insaturação. Os ácidos graxos poliinsaturados com duplas ligações conjugadas são oxidados mais rapidamente que aqueles com duplas ligações não conjugadas.

Na oxidação do biodiesel, são gerados vários compostos como, aldeídos, cetonas, ácidos, peróxidos, polímeros, os quais modificam as propriedades do combustível afetando, assim, o funcionamento do motor. Deste modo, a estabilidade oxidativa deve ser entendida como um parâmetro essencial no controle da qualidade do biodiesel (DANTAS et al., 2011).

Os ácidos graxos insaturados, os quais estão normalmente esterificados com glicerol, formando os triacilglicerídeos, são as estruturas mais suscetíveis ao processo oxidativo, pois apresentam em sua molécula duplas ligações, com elevada concentração eletrônica. Desta forma, os ácidos linoléico e linolênico, reconhecidos como essenciais, seriam os substratos mais suscetíveis.

O ranço oxidativo está diretamente relacionado com a presença de ésteres monoalquílicos insaturados. Trata-se da reação do oxigênio atmosférico com as duplas ligações desses ésteres, cuja reatividade aumenta com o aumento do número de insaturações na cadeia (MORETTO; FETT, 1989).

Logo, o mecanismo de auto-oxidação do biodiesel ocorre basicamente, via radical livre, favorecido pelas condições de temperatura na amostra e pelo número de ligações duplas nos ésteres de ácidos graxos.

O biodiesel de natureza metílica se oxida após curtos períodos de estocagem, e sua inércia química está diretamente relacionada com os óleos vegetais empregados na sua produção (PRANK; SCHINDLBAUER, 1998). Um dos meios mais comumente utilizados para se inferir sobre a susceptibilidade de um determinado óleo à oxidação é a avaliação de seu número de iodo.

2.4. ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BODIESEL

A oxidação do biodiesel produz vários compostos como, aldeídos, cetonas, ácidos, peróxidos e polímeros, que modificam as propriedades do combustível, comprometendo, assim, o armazenamento do produto e a especificação tanto do B100 como de suas misturas com o diesel. Desta forma, a estabilidade oxidativa deve ser considerada como um parâmetro essencial no controle da propriedade do biodiesel (DANTAS et al., 2011; DANTAS et al., 2006; DANTAS et al., 2007).

O uso de biodiesel como combustível tem seu principal inconveniente à sua suscetibilidade à oxidação. Difundir seu uso como combustível alternativo depende do desenvolvimento de tecnologias que aumentem sua resistência à oxidação durante o tempo de estocagem. Dependendo da matéria prima utilizada e do processo de produção, esta poderá ter concentrações distintas de ésteres e de ácidos graxos, com cadeias carbônicas com múltiplas insaturações, ácidos graxos livres e outros compostos contaminantes (metais). No entanto, no processo de oxidação os compostos insaturados são significativamente mais susceptíveis à oxidação do que os saturados. E essa tendência a oxidação cresce à medida que aumenta o grau de insaturação.

O tipo e o teor de ácidos graxos presentes no óleo vegetal têm um efeito marcante sobre a estabilidade do biodiesel diante do armazenamento e da oxidação. Por exemplo, quedas bruscas na temperatura ambiente promovem o aumento da viscosidade e a cristalização de ésteres graxos saturados que, eventualmente, podem causar o entupimento de filtros de óleo e dos sistemas de injeção. A tendência à “solidificação” do combustível é medida

através dos pontos de entupimento de filtro a frio, e de fluidez e névoa, que devem ser tanto mais baixo quanto o possível. Abaixamentos no ponto de fluidez, muitas vezes motivados pela aditivação de inibidores de cristalização (STOURNAS; LOIS; SERDARI, 1995; RAMOS, 2003), representam menores restrições do biocombustível às variações de temperatura, evitando assim os problemas de estocagem e de utilização em regiões mais frias. O animal possui maior grau de saturação e, por isso, é evitado nos meses mais frios na região Sul do Brasil para diminuir a possibilidade de cristalização do combustível. Obviamente, esse problema não é exclusivo do biodiesel, pois o diesel de petróleo contém parafinas que apresentam tipicamente o mesmo comportamento.

A formação de depósitos por precipitação ocorre em função do envelhecimento e/ou oxidação do biodiesel. A degradação oxidativa do biodiesel gera resinificação que, por aderência, constitui uma das principais causas da formação de depósitos nos no sistema de injeção de combustível. Em decorrência desse fenômeno, foi também observada uma queda no desempenho, um aumento da susceptibilidade à corrosão e a diminuição da vida útil dos motores (LUIS et al., 2012). Existe a diferença de estabilidade ao armazenamento e estabilidade oxidativa que segue a seguinte distinção: estabilidade ao armazenamento refere-se à estocagem por longos períodos em temperaturas baixas ou moderadas (0 a 49 °C), enquanto que a estabilidade oxidativa é uma tentativa de prever o comportamento do armazenamento num tempo menor de ensaio. Com condições mais severas de oxidação, o ensaio normatizado procura verificar num período de horas se o combustível consegue permanecer dentro da especificação por um período de 30 dias.

A estabilidade de estocagem de um combustível líquido, enfim, é definida pela sua relativa resistência a mudanças físicas e químicas, ocorridas devido à interação com o meio ambiente. A estabilidade depende da interação com compostos sulfurosos, nitrogenados, dienos e oxigênio, que pode levar à formação de sedimentos e alteração de cor, dependendo do tipo e de quantidade de materiais instáveis presentes. A pureza do combustível com relação à presença de água, partículas sólidas, produtos de degradação do mesmo e de microrganismos também influenciam sua estabilidade.

2.5. ANTIOXIDANTE

Qualquer antioxidante para usufruir de tal status deve obedecer a certos requisitos: por um lado deve ser capaz de inibir a oxidação, mesmo em baixas concentrações (HALLIWELL, 1997; HALLIWELL, 1990) e, a sua forma oxidada deve ser suficientemente estável, para não desencadear novas reações de oxidação (SHAHIDI; WANASUNDARA, 1992).

Uma ampla definição de antioxidante é: “qualquer substância que, presente em baixas concentrações, quando comparada a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz” (SIES, 1993).

Os antioxidantes são conhecidos pela ação em diferentes níveis do processo de oxidação, os quais envolvem moléculas de lipídeos. Podem agir diminuindo a concentração de oxigênio, interceptando o oxigênio singlete evitando a fase de iniciação da oxidação pelo sequestro de radicais hidroxil, quelando íons metálicos e decompondo produtos primários a compostos que não são radicais (SHAHIDI; WANASUNDARA, 1992).

Para tornar o biodiesel dentro das especificações impostas pela ANP, aditivos antioxidantes, de origens sintéticas ou naturais são então adicionados. Os antioxidantes apresentam-se como alternativa para prevenir a deterioração oxidativa de derivados de ácidos graxos, uma vez que são substâncias capazes de retardar ou reduzir a velocidade da oxidação e podem ser classificados, de maneira geral, como naturais e sintéticos (POLAVKA et al., 2005; LOH; CHEW S; CHOO, 2006).

Dentre estes existem os primários, removedores de oxigênio, biológicos, agentes quelantes e antioxidantes mistos (RAMALHO; JORGE, 2006).

Os primários são compostos fenólicos que promovem a remoção ou inativação dos radicais livres formados durante a iniciação ou propagação da reação, através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia.

Entre os antioxidantes mais comumente utilizados estão os naturais, principalmente os tocoferóis. Entre os compostos fenólicos sintéticos pode-se citar o butil-hidroxi-anisol (BHA), o butil-hidroxi-tolueno (BHT) e o butil-

hidroquinona-terciária (TBHQ), os quais estão ilustrados na (FIGURA 10) (NAKATANI; SHAHIDI, 1996; RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996).

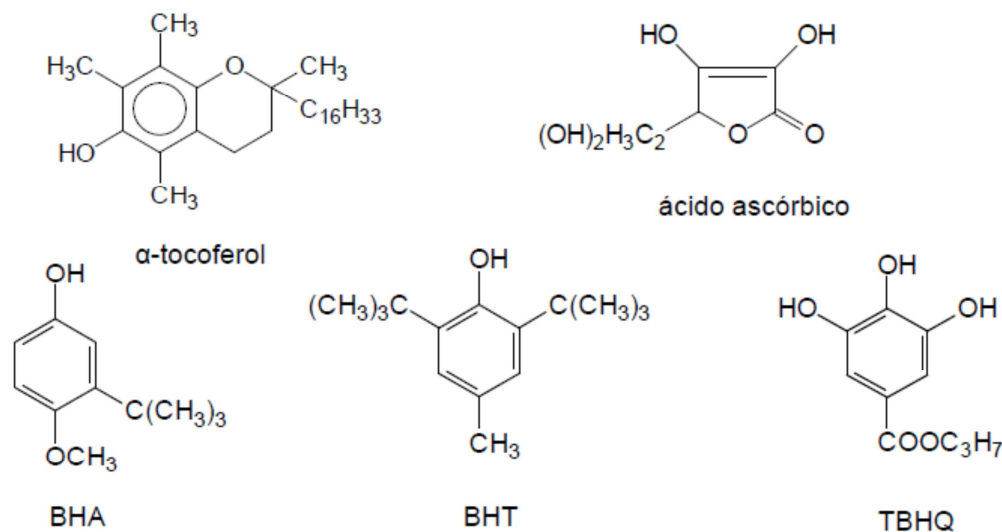


FIGURA 10 - ESTRUTURA QUÍMICA DE ANTIOXIDANTES NATURAIS E SINTÉTICOS
 FONTE: NAKATANI; SHAHIDI, 1996; RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996.

O BHA é um antioxidante de pouca estabilidade frente a elevadas temperaturas, mas é particularmente efetivo no controle de oxidação de ácidos graxos de cadeia curta, como aqueles contidos em óleo de coco e palma (BOBBIO; BOBBIO, 2001).

O BHT é um composto orgânico lipossolúvel e antioxidante usado como aditivo alimentar, conservante (também para cosméticos), remédios, combustível, borracha e taxidermia. É produzido a partir do cresol e do isobutileno. Reage com os radicais livres, retardando a oxidação e mantendo as características do material a proteger.

O TBHQ é um pó cristalino branco e brilhoso, moderadamente solúvel em óleos e gorduras e não se complexa com íons de cobre e ferro, como o galato. É considerado, em geral, mais eficaz em óleos vegetais do que o BHA ou o BHT; em relação à gordura animal, é tão efetivo quanto o BHA e mais efetivo do que o BHT (FERRARI; SOUZA, 2009).

O BHA e o TBHQ são os mais utilizados na conservação de óleos vegetais estocados (SHAHIDI; NACZK, 1995).

Dentre os antioxidantes naturais, encontram-se os tocoferóis, que são antioxidantes monofenólicos que ajudam a estabilizar a maioria dos óleos vegetais. São classificados em oito diferentes compostos pertencendo a duas

famílias distintas: os tocóis e os tocotrienóis, tendo como prefixos as letras gregas α , β , γ e δ dependendo do número e da posição dos grupos metílicos ligados ao anel aromático, são chamados de α , β , γ e δ – tocoferóis (FIGURA 11), sendo que a atividade antioxidante decresce do δ para o α -tocoferol (PALOZZA et al., 2008).

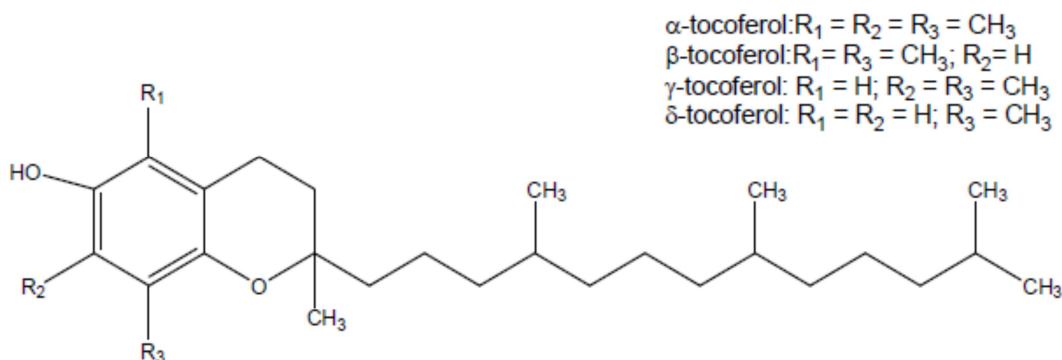


FIGURA 11 - TIPOS DE TOCOFERÓIS
 FONTE: FERRARI, 2012

Os antioxidantes sintéticos são muito efetivos e muito estáveis, entretanto, o uso deles como aditivos é restrito em muitos países devido à possibilidade de causarem efeitos indesejáveis em enzimas dos órgãos humanos. Como resultado, há um grande interesse de se encontrar novos antioxidantes que sejam seguros e provenientes de fontes naturais (NAKATANI; SHAHIDI, 1996).

Os antioxidantes derivados da biomassa são bastante promissores uma vez que são originários de matéria prima de baixo valor comercial, vindo a tornarem-se compostos de alto valor agregado. Dentre os antioxidantes derivados da biomassa pode-se dar destaque ao tanino, sendo este derivado da casa da árvore da Acacia Negra (*Acacia mearnsii*).

Antioxidantes fenólicos, como o tanino, funcionam como sequestradores de radicais livres (RL) como o $\text{I}\cdot$, o $\text{R}\cdot$ e o $\text{ROO}\cdot$ e de oxigênio.

Conforme se vê na (FIGURA 12), os prótons e elétrons formados nas reações de oxidação do grupo catecol da molécula de catequina do tanino, reagirão com as moléculas de oxigênio do meio, formando água. Agindo tanto na etapa de iniciação, como na propagação do processo oxidativo. Os produtos intermediários formados pela ação deste antioxidante, tanino, são

relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático apresentada por esta substância.

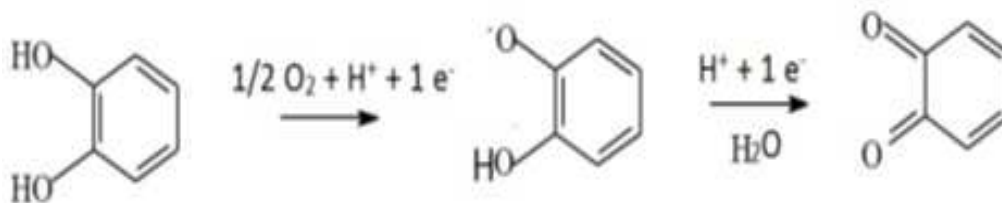


FIGURA 12 - EXEMPLOS DE REAÇÕES DE CAPTAÇÃO DE OXIGÊNIO E DE FORMAÇÃO DO RADICAL LIVRE SEMIQUINONA, CAPTADOR DE RL, A PARTIR DO CATECOL DA ESTRUTURA DA CATEQUINA QUE COMPÕE O TANINO.

Os flavanóis, os quais estão presentes no grupo de polifenóis totais do extrato de tanino, cumprem as exigências as quais são estabelecidas aos antioxidantes, já que estudos realizados comprovaram a sua eficiência de antioxidante, mesmo em pequenas quantidades. Características estruturais, como, a presença da unidade catecol em conjugação com a sua aromaticidade, a qual proporciona uma elevada estabilidade à forma oxidada do polifenol (BORS et al., 1990; ARIGA; HAMANO, 1990; KITAGAWA; FUJISAWA; SAKURAI, 1992).

A literatura relata que, compostos fenólicos são eficientes antioxidantes contra a deterioração oxidativa de ácidos graxos polinsaturados (SUN; THAKORLAL; ZHOU, 2011). A atividade antioxidante dos flavonóides ocorre devido a sua habilidade de sequestrar radicais livres, atuando assim, como doadores de hidrogênio e quelantes de metais (GOZALO; ALOSO, 2002; RICE-EVAN; MILLER; PAGANGA, 1996).

Ainda que o modo específico de inibição da oxidação de cada composto ainda não esteja totalmente esclarecido, é possível notar algumas propriedades peculiares: (1) quelar metais através da estrutura orto-dihidróxifenólica, (2) sequestrar radicais peróxilas e alquilas, atuando como doadores de hidrogênio, (3) regenerar α -tocoferol através da redução do radical α -tocoferoxila (GOZALO; ALOSO, 2002; RICE-EVAN; MILLER; PAGANGA, 1996). A eficácia dos antioxidantes fenólicos está relacionada com a estabilidade relativa de seus radicais intermediários, devido, à ressonância e à falta de posições adequadas na estrutura para ataque pelo oxigênio molecular (RIBEIRO, 2005; PANNALA, 2001).

As mesmas propriedades que determinam a atividade antioxidante de um composto são responsáveis pela manifestação de potenciais efeitos pro-oxidantes, que são substâncias endógenas ou exógenas que possuem a capacidade de oxidar moléculas-alvo.

2.6. TANINOS

O termo tanino é originário do francês “tanin”, que é utilizado para uma ampla faixa de compostos polifenólicos naturais.



FIGURA 13 - TANINO EM PÓ
FONTE: REVISTA-FI, 2014

Taninos são macromoléculas presentes em vários metabolismos secundários, presentes em diversos grupos vegetais, sendo classificados, segundo sua estrutura química, em dois grandes grupos: taninos hidrolisáveis e taninos condensados. Taninos hidrolisáveis apresentam na sua constituição, monômeros de ácido gálico (tanino gálico) ou ácido elágico (tanino elágico), enquanto os taninos condensados são formados pela polimerização de unidades de catequina. Os taninos são substâncias capazes de combinações estáveis com as proteínas e com outros polímeros, tais como os polissacarídeos. Outro aspecto dos taninos, que os caracterizam como importante substância de defesa química vegetal, está relacionada ao forte poder antioxidante dessas moléculas.

Por apresentarem ação antioxidante, são moléculas que podem atuar no processo de estabilização de radicais livres. Os taninos pertencem a um

grupo de compostos polifenólicos, provenientes do metabolismo secundário das plantas (BUTLER, 1984) e são definidos como polímeros fenólicos solúveis em água os quais que precipitam proteínas (HASLAM, 1989). Apresentam alto peso molecular, entre 500 a 3000 Dalton (MANGAN, 1988) e contêm grupos hidroxila-fenólicos em quantidade suficiente para permitir a formação de ligações cruzadas estáveis com proteínas (DESHPANDE; CHERYAN; SALUNKHE, 1986)

A maioria dos compostos fenólicos não é encontrada no estado livre na natureza, mas em forma de ésteres ou de heterosídeos sendo, portanto, solúveis em água e em solventes orgânicos polares (MELLO et al., 2001). Por serem fenólicos, os taninos são muito reativos quimicamente, formam pontes de hidrogênio intra e intermoleculares. Um mol de tanino pode ligar-se a doze mols de proteínas. Fundamentando-se nessa propriedade, podem-se identificar os taninos por teste de precipitação de gelatinas, por exemplo (MELLO et al., 2001; CHUNG; WEI; JOHNSON, 1998; BIANCO; SAVOLAINEN, 1997; VICKERY; VICKERY, 1981). Estes compostos são facilmente oxidáveis, tanto através de enzimas vegetais específicas, quanto por influência de metais como cloreto férrico, o que ocasiona o escurecimento de suas soluções (MELLO et al., 2001).

Na forma não oxidada, os taninos reagem com as proteínas através de pontes de hidrogênio e/ou ligações hidrofóbicas. Quando oxidados, os taninos se transformam em quinonas, as quais formam ligações covalentes com alguns grupos funcionais das proteínas, principalmente os grupos sulfidrícos da cisteína e ϵ -amino da lisina (SGARBIERI, 1996).

Taninos são encontrados em maiores concentrações na madeira e na casca de certas folhosas, sendo que a casca da Acácia-negra (*Acacia mearnsii*) e a madeira do Quebracho (*Schinopsis balance* Engl.) estão entre as mais importantes fontes de taninos condensados destinados a produção industrial (PIZZI, 1983; WEYER, 1985).

A plantação de acácia negra iniciou no Brasil em 1928, com sementes trazidas da África do Sul. A principal empresa produtora no Brasil é a TANAC S. A., situada em Montenegro (RS), a qual exporta cerca de 8 % da sua produção (aproximadamente 30 000 toneladas por ano) para mais de 70 países (TANAC, 2014). O principal processo de extração dos taninos da casca da

acácia negra é baseado na extração com água e vapor de água (CASSEL; VARGAS, 2008).

No Brasil, a casca da Acácia negra é a mais utilizada na produção de taninos, segundo dados do IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2009). Cerca de 158.000 toneladas de cascas foram extraídas no sul do país no ano de 2008. A casca de *Acacia mearnsii* pode apresentar até 28% de taninos (base em peso seco) (SANTOS et al., 2001). No entanto, a produtividade de tanino depende de diversos fatores, tais como: características genéticas da planta, características climáticas e pedológicas, das técnicas silviculturais e de manejo utilizados nos povoamentos (VIEIRA et al., 2011). A interação entre estes fatores determinam uma significativa variação de concentração de taninos na casca adquirida pela indústria (CUNHA, 2006; MARTINEZ, 2006; RAWCHAL et al., 2001).



FIGURA 14 - CASCA DA ACÁCIA NEGRA (ACÁCIA MEARNsii)
FONTE: ACÁCIA NEGRA, 2014

2.6.1 QUÍMICA E ESTRUTURA DOS TANINOS

Os taninos são classificados em dois grupos: 1) taninos hidrolisáveis, que, após hidrólise, produzem carboidratos e ácidos fenólicos; e 2) taninos condensados ou não hidrolisáveis, que são resistentes à hidrólise, e são oligômeros do grupo flavan-3-ols ou flavan 3,4-diols (SALUNKHE; CHAVAN; KADAM, 1990).

2.6.2. TANINOS HIDROLISÁVEIS

Os taninos hidrolisáveis são unidos por ligações éster-carboxila, sendo prontamente hidrolisáveis em condições ácidas ou básicas (HAGERMAN; BUTLER, 1981) (FIGURA 15).

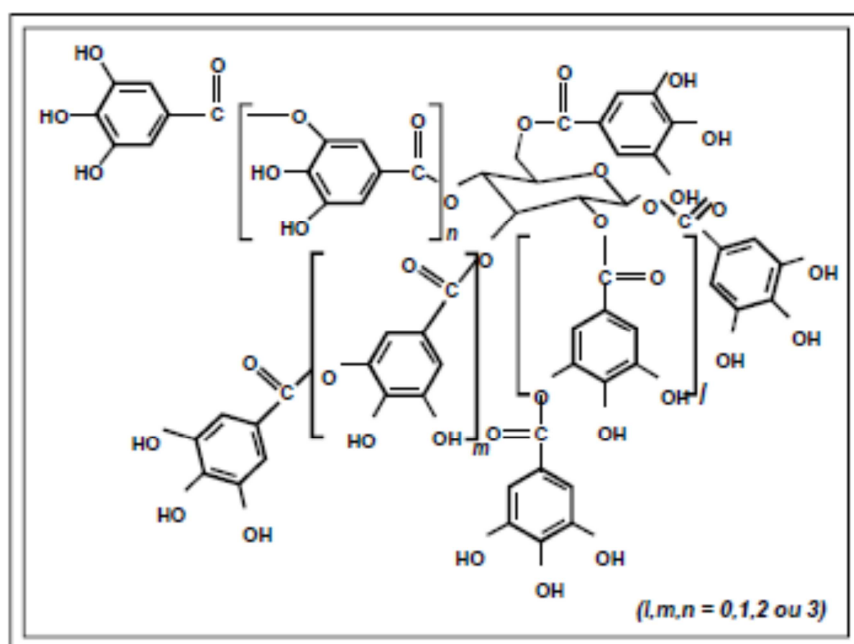


FIGURA 15 - ESTRUTURA DE TANINOS HIDROLISÁVEIS
 FONTE: NAKAMURA; TSUJ; TONOGAI, 2003

Os taninos hidrolisáveis são ainda classificados em galotaninos e elagitaninos. Os galotaninos são compostos por unidades de ácido gálico unidos por ligações depsídicas entre elas, demonstrada na (FIGURA 16).

Já os elagitaninos são moléculas que possuem um ou dois resíduos de hez-hidroxi-difenóila de configuração R ou S, os quais são obtidos pelo acoplamento oxidativo C-C entre dois resíduos de ácido gálico adjacentes. Após a hidrólise ácida das ligações ésteres, ocorre a liberação do ácido difênico, que se rearranja espontaneamente para o ácido elágico. Os elagitaninos isolados até o presente são monômeros, dímeros, trímeros e tetrâmeros (LEKHA; LONSANE, 1997).

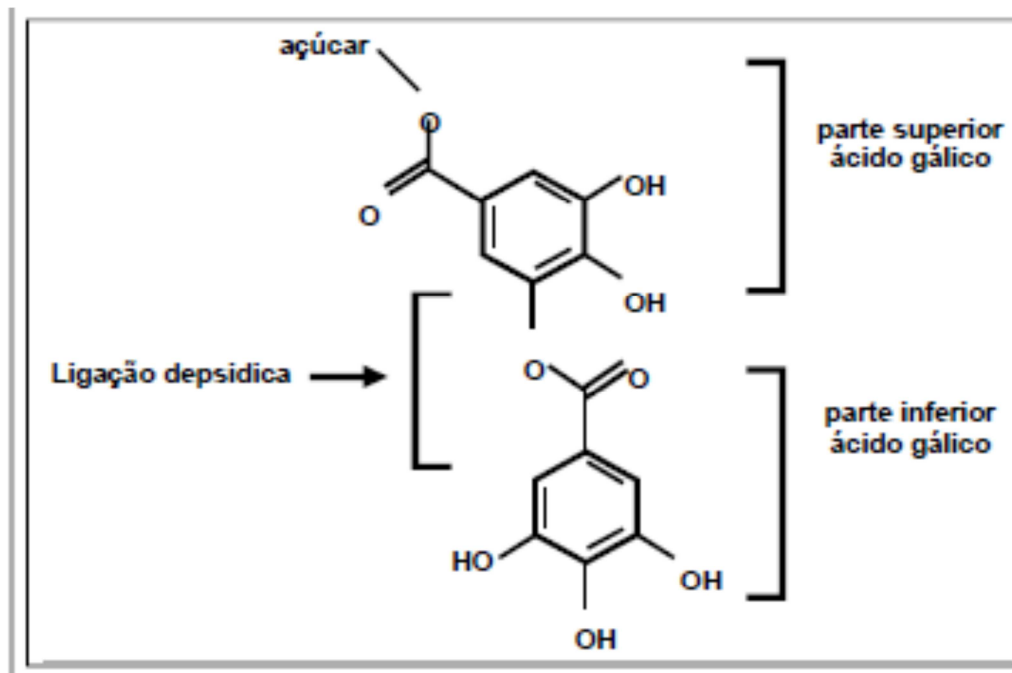


FIGURA 16 - EXEMPLO DE LIGAÇÃO DEPSÍDICA FORMADA ENTRE O GRUPO FENÓLICO SUPERIOR E O GRUPO INFERIOR DE UMA UNIDADE DE ÁCIDO GÁLICO
 FONTE: HARVEY, 2001

2.6.3. TANINOS CONDENSÁVEIS

São substâncias constituídas por unidades flavonóides como as monoflavonóides, diflavonóides, triflavonóides e tetraflavonóides (PIZZI, 1983). Os flavonóides são moléculas constituídas por unidades tricíclicas e hidroxiladas de 15 carbonos (JORGE et al., 2001).

Estão presentes em maior quantidade nos alimentos normalmente consumidos (DESHPANDE; CHERYAN; SALUNKHE, 1886; SALUNKHE; CHAVAN; KADAM; 1990). Os taninos condensados podem conter de duas a cinquenta unidades flavanóides; possuem estruturação complexas e são resistentes à hidrólise, mas podem ser solúveis em solventes polares, dependendo de sua estrutura. A (FIGURA 17) ilustra a estrutura química dos taninos condensados.

Os estudos da relação estrutura-atividade demonstraram que, o número e a posição das hidroxilas, bem como as alquilações e as glicosilações, interferem na atividade antioxidante dos flavonóides. A glicosilação e a metilação diminuem a atividade antioxidante dos flavonóides, enquanto que a o-hidroxilação do anel B, a carbonila na posição 4 e grupamento hidroxila na

posição 3 e 5 aumentam a atividade (LU; FOO, 1997; LU; FOO, 1999; LU; FOO, 2000; RICE-EVANS; MILLER, 1994; RICE-EVANS; MILLER, 1997; RICE-EVANS; MILLER, 1995; RICE-EVANS; MILLER, 1996; XUE et al., 2001). De uma maneira geral, a atividade antioxidante diminui na seguinte ordem: flavanol > flavonol > chalcona > flavona > flavanona > isoflavona. Nos taninos, a atividade antioxidante melhora com o aumento dos grupamentos galoil, orto-hidroxilas e com aumento do peso molecular (YOKOZAWA et al., 1998).

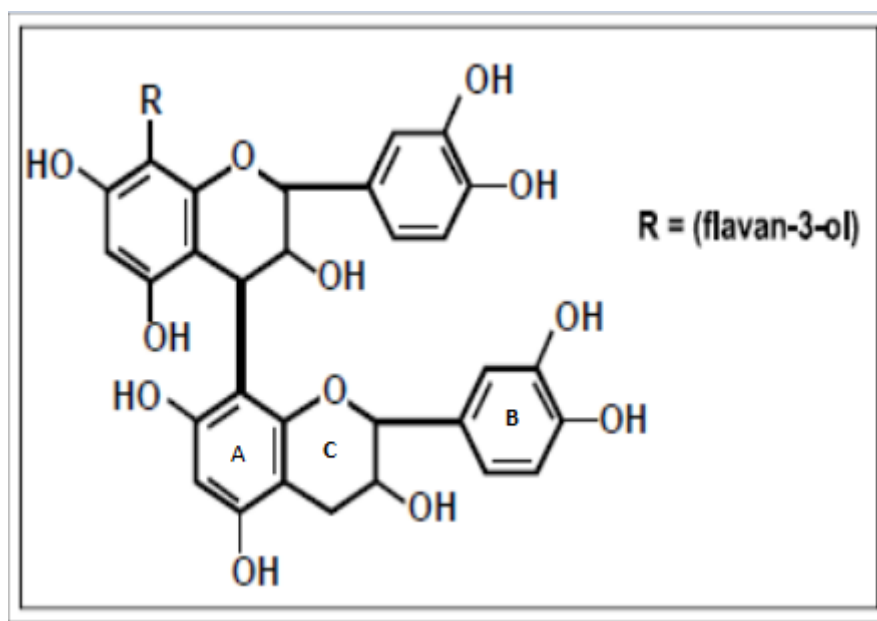


FIGURA 17 - ESTRUTURA QUÍMICA DE TANINOS CONDENSADOS
 FONTE: LEKHA; LONSANE, 1997

2.6.4. CATEQUINAS

As catequinas pertencem à família dos 3-flavanóis e são constituídos por um anel floroglucinol, um anel pirânico e um anel catecol (FIGURA 18).

As catequinas neutralizam os radicais livres oxigenados (R•) cedendo átomos de hidrogênio dos grupos hidroxilo, localizados preferencialmente no anel catecol, devido à acessibilidade estereoquímica destes e à posição *orto* dos dois grupos hidroxilo, que favorecem a deslocalização eletrônica do elétron e conferem uma grande estabilidade à forma radicalar (ARIGA; HAMANO, 1990; SICHEL et al., 1991; ALBURQUERQUE, 2006). A substituição no anel floroglucinol da estrutura polifenólica parece exercer uma influência pouco

significativa no potencial de redução da semiquinona formada (JOVANOVIC et al., 1994; JOVANOVIC et al., 1998).

As catequinas são potentes antioxidantes, sequestrantes de radicais livres, quelantes de metais e inibidores da peroxidação (SCHMITZ et al., 2005).

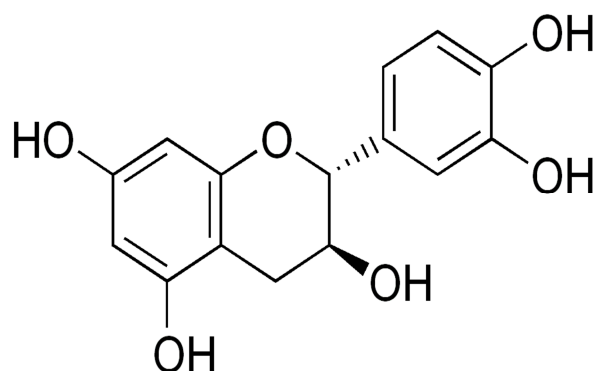


FIGURA 18 - ESTRUTURA DA CATEQUINA
FONTE: WIKIPEDIA, 2014

A sustentabilidade nos últimos anos ganhou muita importância no cenário econômico mundial, principalmente devido à intenção de diminuir problemas ambientais que tem sido causado com o uso de combustíveis fósseis, que ocasionam diretamente o efeito estufa. Assim a pesquisa com interesse no desenvolvimento de tecnologias sustentáveis cresceu bastante, o biodiesel surgiu como uma opção de substituição de combustíveis de origem fóssil. E como forma de melhorar ainda a qualidade deste biocombustível, aditivos antioxidantes para o mesmo começaram a ser desenvolvidos nos últimos anos, pois ao adicioná-lo ao biocombustível pode aumentar sua estabilidade oxidativa consideravelmente.

Porém como foi perceptível, patentes relacionadas a aditivos naturais ainda não possuem muitos registros, provavelmente por ser uma área nova em desenvolvimento laboratorial. A utilização de aditivos antioxidantes naturais são mais sustentáveis e rentáveis por não utilizarem em suas fabricações matérias-primas sintéticas, além de serem mais baratos aos custos de produção. Logo, levando em consideração a importância da adição de antioxidantes para garantir a qualidade do biocombustível e sendo que estudos de antioxidantes naturais no biodiesel são mais escassos, se faz necessário o desenvolvimento de novos estudos em substâncias, sobretudo as de origem natural. A utilização

do tanino dissolvido em amina torna-se uma nova alternativa de antioxidante natural eficiente e de baixo custo já que, é produzido por biomassas.

2.7. ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA (EPR)

A ressonância paramagnética eletrônica (EPR), ou ressonância de spin eletrônico (ESR), é uma técnica espectroscópica, pela qual a radiação, na frequência de microondas, é absorvida por moléculas, íons ou átomos possuindo elétrons com spins desemparelhados, quando estes são submetidos a um campo magnético. As substâncias que possuem elétrons desemparelhados são chamadas de paramagnéticas e incluem radicais livres, íons de metais de transição, cristais com defeitos e moléculas como NO (POOLE; FARACH, 1972). Substâncias diamagnéticas, ou seja, aquelas que não possuem elétrons desemparelhados, não podem ser detectadas por EPR, e, portanto, não interferem nos experimentos envolvendo substâncias paramagnéticas.

Esta técnica é projetada para detectar elétrons desemparelhados, ou ainda, para realizar investigação de íons ou moléculas com elétrons desemparelhados (ATKINS, 1999). A maior parte das moléculas possui seus elétrons emparelhados, porém um número respeitável de sistemas contém elétrons desemparelhados, como nos seguintes exemplos (BOTIS, 2005):

1. Molécula que possui um elétron desemparelhado possui um radical livre;
2. Moléculas que contenham dois elétrons desemparelhados (com interações fracas entre eles) possuem bi - radicais;
3. Moléculas que contenham dois elétrons desemparelhados (fortemente acoplados) entidades de estado de tripleto (estado de tripleto pode ser um estado circular ou ótico, ou ainda, térmico excitado);
4. Entidades com três ou mais elétrons desemparelhados;
5. Defeitos de ponto nos sólidos ou imperfeições localizadas na rede cristalina são considerados “buracos de elétrons”, causando assim a sua elevação como elétron desemparelhado;
6. A maioria dos íons de metal de transição.

No fenômeno da ressonância todas as espectroscopias investigam esses sistemas monitorando a rede de energia absorvida no campo de radiação eletromagnética, onde moléculas trocam o estado de energia (ORTON, 1968).

Associados com o campo da radiação têm-se oscilações do campo elétrico e magnético, um perpendicular ao outro. O campo elétrico é um componente que interage com os sistemas causando a mudança de estado de energia, resultando na transição de elétrons de seus estados vizinhos para estados excitados, após a sua absorção (WERTZ; BOLTON, 1972).

O momento magnético μ de um elétron pode ser expresso em termos de seu spin (S) pela equação:

$$\mu = -g.\beta.S \quad (1)$$

em que: g = fator giromagnético do elétron;

β = magnéton de Bohr.

Na presença de um campo magnético H (aplicado na direção z), o momento magnético do elétron tende a se alinhar com a direção do campo aplicado (efeito Zeeman), e a energia de orientação é dada pelas expressões:

$$E = \mu \times H \quad (2)$$

$$E = -g.\beta.H.M_S \quad (3)$$

em que: M_S = orientação do spin eletrônico ($S = \frac{1}{2}$) no eixo z.

Os valores possíveis de M_S são $+\frac{1}{2}$ e $-\frac{1}{2}$, que correspondem aos alinhamentos paralelos e antiparalelos do elétron na direção z do campo magnético. Formam-se então 2 níveis de energia ($E = +\frac{1}{2}g.\beta.H$ e $E = -\frac{1}{2}g.\beta.H$), chamados de níveis de Zeeman. A diferença de energia entre os dois estados é $\Delta E = g.\beta.H$.

A ressonância ocorre quando se excita o sistema magnético, de modo a induzir transições de nível de energia mais baixo para o de energia mais alto. Isso ocorre quando se aplica um quantum de energia ($h\nu$) igual à diferença de energia entre os níveis (ΔE). Assim, a condição para a transição é dada por:

$$h.v = g.\beta. H_0 \quad (4)$$

em que: h = constante de Planck;

v = frequência da radiação eletromagnética aplicada;

H_0 = valor do campo magnético em que ocorre a transição.

A energia $h\nu$ normalmente é fornecida à amostra através da exposição a um campo de microondas perpendicular ao campo magnético H , que é variado até que ocorra a transição. Quando essa ocorre, a amostra absorve energia do campo de microondas. Essa absorção, ou geralmente sua derivada, é então detectada.

A equação (4) se refere a uma descrição muito simples do sistema. Na realidade, a expressão das energias é mais complexa devido aos acoplamentos do dipolo magnético do elétron desemparelhado com o dipolo magnético do núcleo do átomo, e fatores anisotrópicos que resultam nas chamadas interações hiperfinas. O número de linhas da interação hiperfina é dado pela multiplicidade dos estados de spin nuclear, dada na equação (5):

$$N = 2I+1 \quad (5)$$

onde I é o número quântico de spin nuclear. No caso, por exemplo, de $I = 1$, (átomo de N), a linha de EPR será dividida em três linhas, e a separação dessas três novas linhas corresponde ao valor da interação dos dipolos magnéticos, elétron – núcleo que, em Gauss ou outra unidade correspondente, é o valor da constante de interação hiperfina (A).

Quando o espectro é referente a uma molécula com um conjunto de n núcleos equivalentes (no mesmo ambiente químico), tendo a mesma quantidade de interação com o elétron desemparelhado (mesmo I), o número de linhas do espectro é dado pela equação (6):

$$N = 2 \times (n \times I) + 1 \quad (6)$$

A (FIGURA 19) mostra, de uma forma ilustrativa, como ocorre essa transição e o respectivo sinal registrado pelo aparelho. Por questões práticas, mantém-se a frequência da radiação de microondas e varia-se o campo

magnético. Isso ocorre porque a amostra é colocada dentro de uma cavidade ressonante, cujas dimensões são ajustadas à frequência de microondas utilizada, sendo então impossível variar essa frequência sem variar as dimensões da cavidade.

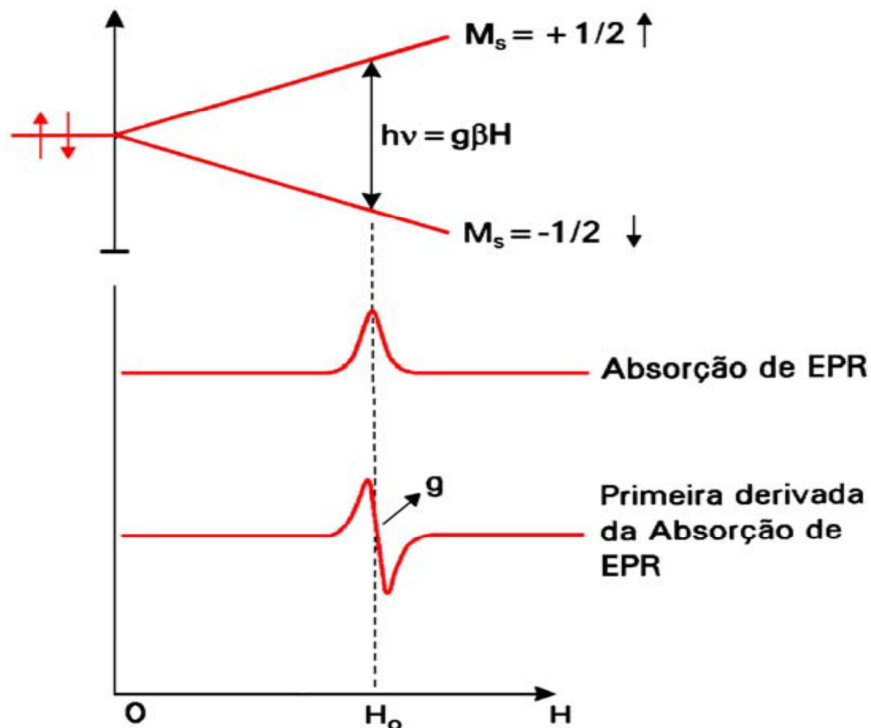


FIGURA 19 - DESDOBRAMENTO DOS NÍVEIS DE ENERGIA DO SPIN ELETRÔNICO NA PRESENÇA DE UM CAMPO MAGNÉTICO E SINAIS REGISTRADOS COM A TRANSIÇÃO ELETRÔNICA

FONTE: RESSONÂNCIA MAGNÉTICA, 2014

O valor da constante giromagnética do elétron livre (g_e) é igual a 2,0023193. Entretanto, em diferentes situações o valor de g medido experimentalmente pela equação 4, pode diferir muito do g_e . O acoplamento spin-órbita fornece um mecanismo com o qual o momento angular orbital pode ser adicionado ao momento angular de spin (GOODMAN; HALL, 1994). Quando isso ocorre de forma significativa, o valor de g experimental pode diferir do g_e . Devido ao fato da constante de acoplamento spin-órbita aumentar com o aumento do número atômico, observa-se que radicais livres orgânicos apresentam valores de g próximos ao g_e , enquanto que metais de transição podem apresentar grandes diferenças do valor de g em relação ao g_e .

A EPR apresenta algumas características vantajosas como:

- Capacidade de estudos em amostras nos estados sólido, líquido ou gasoso;
- Alta sensibilidade (detecta até 10¹² spins em 0,1 mL);
- Capacidade de identificação e determinação da concentração dos radicais livres;
- Fornece informações sobre o estado de valência e simetria de íons metálicos;
- Não é destrutiva e não usa radiação ionizante.

Um espectrômetro de EPR conforme a (FIGURA 20) é basicamente formada por:

- Eletroímã com fonte de alimentação e sistemas reguladores e de medida de campo magnético;
- Gerador de microondas, em geral com válvula Klystron, com fonte de alimentação e unidade de estabilização de frequência e potência;
- Sistemas de processamento e registro do sinal de EPR;
- Dispositivos para medidas em diferentes temperaturas.



FIGURA 20 - APARELHO DE ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA
FONTE: A AUTORA, 2014

Para obter-se o espectro fornecido pelo aparelho de EPR, coloca-se as amostras, devidamente preparadas, num porta-amostra de quartzo que é inserida na cavidade ressonante do aparelho. As bobinas de Helmholtz (eletroímãs), em torno dessa cavidade, irão variar a intensidade do campo linearmente de modo que ocorra o “efeito Zeeman” e o sistema de controle de dados registrará o espectro obtido para a futura análise dos dados.

A (FIGURA 21) mostra um esquema de um espectrômetro que foi utilizado no experimento.

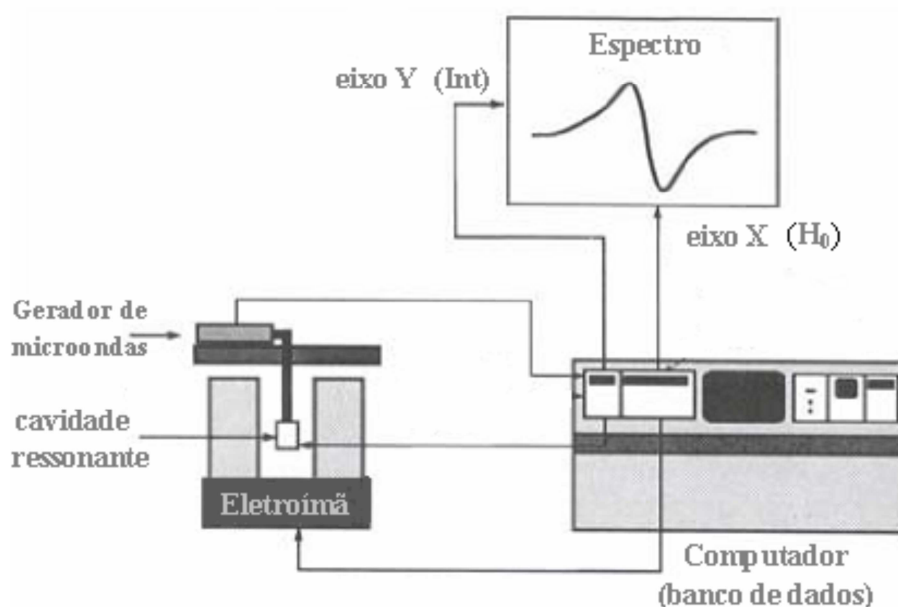


FIGURA 21 - ESQUEMA DO ESPECTRÔMETRO DE EPR UTILIZADO NA PARTE EXPERIMENTAL
FONTE: BRUKER, 2014

A (FIGURA 22) mostra o sinal da absorção (Gaussiana ou Lorentziana), a intensidade da primeira e da segunda derivadas das absorções registradas pelo espectrômetro. A forma de aquisição do sinal de EPR normalmente é efetuada na primeira derivada do sinal de absorção.

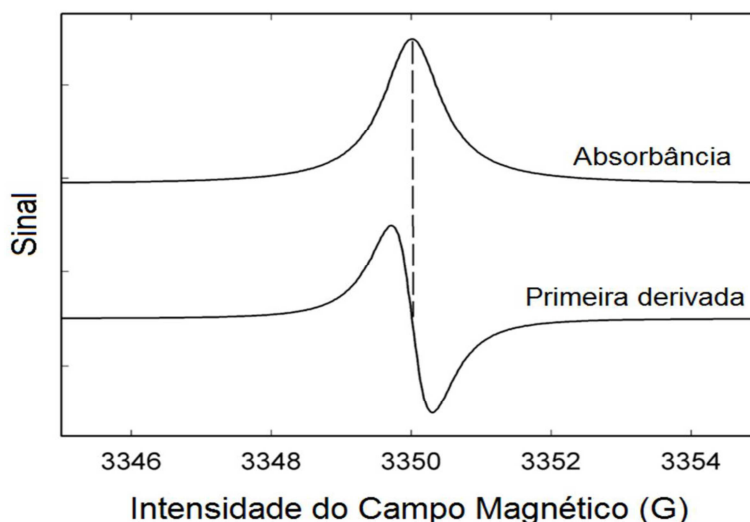


FIGURA 22 - EPECTROS DE EPR MOSTRANDO O GRÁFICO RELATIVO À VARIAÇÃO NA ABSORBÂNCIA, E O DA SUA PRIMEIRA DERIVADA, MAIS COMUMENTE UTILIZADA EM ESTUDOS COM EPR
 FONTE: FERRARI, 2012

2.8. MÉTODO DE OXI-REDUÇÃO COM FORMAÇÃO DE COMPLEXO

Os métodos de doseamento de polifenóis, baseados em reações de oxiredução, iniciaram-se com a utilização do reagente fosfotúngstico por Folin e Macallum em 1912, como forma de quantificar o ácido úrico na urina. O reagente foi modificado posteriormente e denominado reagente de Folin-Denis (FOLIN; DENIS, 1912). Muitas vezes o reagente de Folin-Denis é substituído pelo de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965). Este último é mais sensível à redução pelos fenóis e diminui a tendência à precipitação. As principais diferenças entre estes dois reagentes é o uso de sulfato de lítio, a presença de ácido hidrocloreídrico e o longo tempo de aquecimento para a preparação do reagente de Folin-Ciocalteu (ANGELO; JORGE, 2007). Para ambos os testes, o número de grupos hidroxilas ou de grupos potencialmente oxidáveis controla a quantidade de cor formada. O grupo fenólico deve estar na forma de fenolato para os ânions molibdo e tungstofosfato produzirem a oxidação. As moléculas reduzidas são azuis e as não reduzidas são amarelas. Estas últimas se decompõem vagarosamente em pH alcalino, o qual é necessário para a manutenção do fenol na forma de fenolato (SHAHIDI; WANASUNDARA, 1992).

Em todas as suas variantes, os métodos por oxiredução mencionados, envolvem o doseamento de polifenóis totais (quantificados por espectrofotometria), mediante a formação de um complexo de coloração azul, derivado da redução do reagente pelas hidroxilas fenólicas. A coloração azul ocorre em meio alcalino, porém é pouco estável, em excesso de base fraca, fato que se acentua quando uma base forte é utilizada, observando-se uma perda rápida da coloração (FOLIN; DENIS, 1912). Cabe destacar que os métodos de Folin-Denis e Folin-Ciocalteu encontram-se na aplicação da determinação tanto de substâncias polifenólicas em geral quanto de taninos. O cálculo do teor de taninos é realizado indiretamente, subtraindo o teor de polifenóis totais do teor da fração não-tanante, isto é, do teor de polifenóis não reativos ao tratamento prévio com material protéico ou polimérico (SCALBERT, 1992; COSTA, 1994; SANTOS et al., 2001; MELLO et al., 2001). Algumas limitações têm sido atribuídas aos métodos de quantificação que se utilizam dos reagentes de Folin-Denis e Folin-Ciocalteu. Entre elas, encontra-se o fato de que os reagentes são inapropriados para a comparação do conteúdo fenólico de amostras de diferentes extratos vegetais.

Embora o reagente seja reduzido pelas hidroxilas aromáticas, características de todos os fenóis, a redução depende da estrutura fenólica, além do fato de o reagente poder ser reduzido por outros constituintes do extrato como alcaloides e proteínas, por exemplo. Dessa forma, a composição e a quantidade de fenóis pode ser diferente, mesmo quando a absorvância é semelhante. Por essa razão, os reagentes de Folin-Denis e Folin-Ciocalteu não fornecem uma ideia exata da quantidade de fenóis, mas sim da capacidade de redução da amostra analisada (APPEL et al., 2001). Logo, este método espectrofotométrico, independente do tipo de reagente utilizado, Folin-Denis ou Folin-Ciocalteu, não é um método específico, pois detecta todos os grupos fenólicos presentes no extrato, incluindo as proteínas extraíveis (NACZK; SHAHIDI, 2004).

As limitações do método também se estendem à escolha de uma substância de referência para expressar o teor de fenóis. Se a capacidade de redução da substância selecionada como padrão não é precisamente a mesma do extrato analisado, a concentração calculada a partir da curva padrão não refletirá, obviamente, o teor de fenóis da amostra (APPEL et al., 2001).

O reagente de Folin-Ciocalteu (RFC) consiste de mistura dos ácidos fosfomolibdídico e fosfotúngstico, na qual o molibdênio se encontra no estado de oxidação (VI) (cor amarela no complexo $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$); porém, em presença de agentes redutores como os compostos fenólicos, formam-se os chamados complexos molibdênio-tungstênio azuis $[(\text{PMoW}_{11}\text{O}_4)^{4-}]$, nos quais a média do estado de oxidação dos metais está entre 5 (V) e 6 (VI) e cuja coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras que, não necessariamente, precisam ter natureza fenólica.

O reativo de Folin-Ciocalteu é um dos mais utilizados na pesquisa de compostos fenólicos, sofrendo mudança de coloração do amarelo para azul, denso demonstrada na (FIGURA 23) e a intensidade da coloração azul é maior, quanto maior a quantidade de compostos fenólicos na solução (BORA et al., 2005).



FIGURA 23 - ACOMPANHAMENTO DA MUDANÇA DA COLORAÇÃO NA DETERMINAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS
 FONTE: A AUTORA, 2014

A (FIGURA 24) mostra a desprotonação dos compostos fenólicos (no exemplo, o padrão ácido gálico) em meio básico, gerando os ânions (neste caso, carboxilato). A partir daí, ocorre uma reação de oxiredução entre o ânion e o reagente de Folin-Ciocalteu, na qual o molibdênio, componente do reagente Folin-Ciocalteu sofre redução, e o meio reacional muda de coloração, do amarelo para o azul.

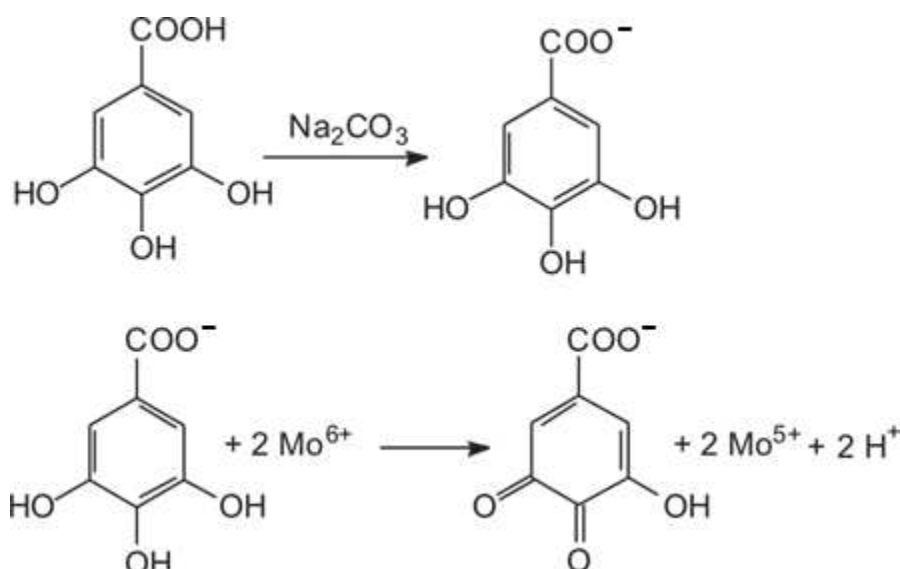


FIGURA 24 - REAÇÃO DO ÁCIDO GÁLICO COM MOLIBDÊNIO, COMPONENTE DO REAGENTE DE FOLIN-CIOCALTEU
 FONTE: WIKIPEDIA, 2014

2.8.1. METODO DO 2,2 – DIFENIL-1-PICRIL-HIDRAZILA (DPPH)

O DPPH (2,2–difeníl-1-picril-hidrazila) foi descoberto por Goldschmidt e Renn em 1922, sendo bastante utilizado em pesquisa de reações envolvendo radicais livres. Sua principal aplicação é como reagente colorimétrico em testes pelo método de espectroscopia de ultravioleta-visível para verificar a ação antioxidante, mais conhecido como testes de captura (do inglês *scavenge*) do DPPH. O DPPH pode agir como um capturador de outros radicais livres ou de substâncias neutras capazes de estabilizá-lo. As substâncias com propriedades antioxidantes possuem essa capacidade. No teste de captura com DPPH ocorre uma reação de oxi-redução, onde o DPPH, que apresenta coloração violeta, é reduzido, ou seja, o elétron desemparelhado do nitrogênio se emparelha com o elétron cedido por um radical hidrogênio de um antioxidante, tornando a solução amarela e ocorrendo a formação do DPPH-H, reduzido e estável, mostrado na (FIGURA 25). É essa característica de mudança de coloração que permite o acompanhamento visual da reação, também baseado na redução da absorvância na região visível de comprimento de onda de 515 nm.

A porcentagem de atividade antioxidante corresponde à quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante, sendo que a quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% é

denominada concentração eficiente (EC_{50}), também chamada de concentração inibitória (CI_{50}). Quanto maior o consumo de DPPH por amostra, menos será a sua IC_{50} e a maior a sua atividade antioxidante (SOUSA et al., 2007).

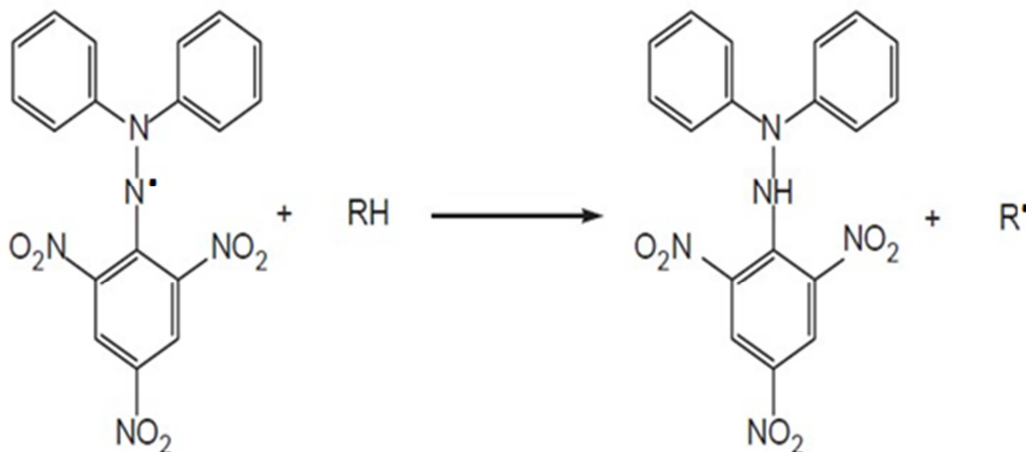


FIGURA 25 - - ESTRUTURA DO DPPH ANTES E DEPOIS DA REAÇÃO COM O ANTIOXIDANTE (RH)
 FONTE: WIKIPEDIA, 2014

2.9. ESTABILIDADE OXIDATIVA VIA RANCIMAT

Os testes acelerados, recorrendo a condições padronizadas de oxidação acelerada (oxigenação intensiva, tratamento térmico e/ou catálise metálica), permitem estimar de forma rápida a estabilidade oxidativa de uma matéria graxa ou a eficácia teórica de um antioxidante, isolado ou em associação, assumindo importância na rotina analítica (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

A estabilidade à oxidação é, portanto um parâmetro de grande importância, cuja determinação baseia-se na metodologia de ensaio acelerado, originalmente, proposta por Hadorn e Zurcher em 1974. Também conhecido como método Rancimat, o qual possibilita avaliar a estabilidade oxidativa de óleos e gorduras pelo envelhecimento acelerado dos óleos e gorduras. Este método baseia-se no registro das variações da condutividade em água ultrapura, na qual se recolhe os ácidos de baixo peso molecular (ácido fórmico e acético) resultantes da oxidação dos óleos e gorduras, em condições de oxidação acelerada (temperatura de 110 °C e oxigenação intensiva) (HADORN;

ZURCHER, 1974). Na (FIGURA 26) mostra-se o Esquema do funcionamento do Rancimat.

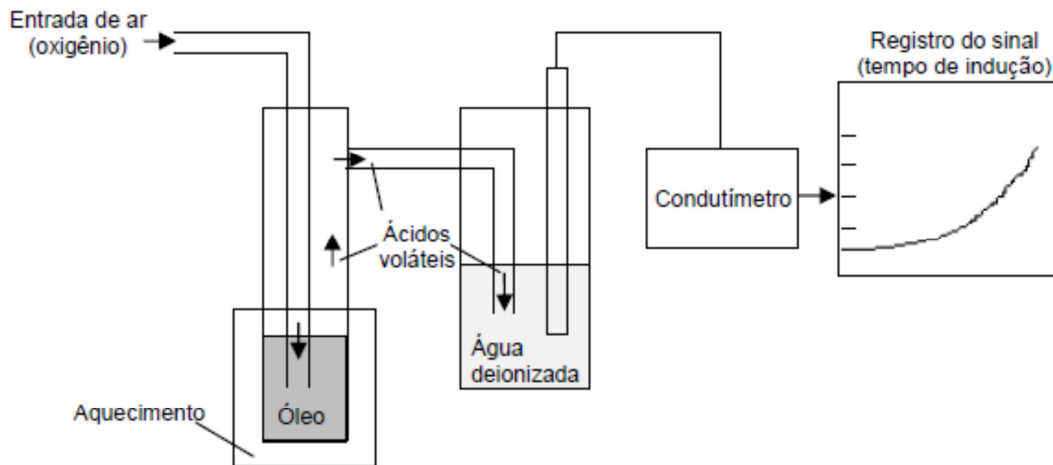


FIGURA 26 - ESQUEMA DO FUNCIONAMENTO DO RANCIMAT
 FONTE: HADORN; ZURCHER, 1974

O analisador Rancimat executa o método de oxidação de uma amostra de biodiesel. O resultado é então extrapolado para a estabilidade sob temperatura de armazenamento. Na prática, uma corrente de ar purificado é borbulhada através da amostra aquecida (geralmente 110 °C ou 230 °F) e é posteriormente borbulhada num frasco contendo água ultra pura. Os produtos resultantes de oxidação, como, ácidos orgânicos voláteis, predominantemente ácido fórmico, irão para o frasco contendo a água ultra pura, aumentando assim a sua condutividade continuamente monitorada

O ponto em que ocorre a máxima variação da taxa de oxidação ocorre, chama-se, tempo de indução (TI), no qual se constata um rápido aumento da taxa de oxidação, do índice de peróxido, da absorção de oxigênio e de formação de voláteis (DEMAN, 1984). Esta metodologia encontra-se hoje normalizada de acordo com a norma EN 14112:2003, e faz parte da Resolução 45 de 25/08/2014 da ANP (Resolução da ANP N° 42/2004) que regula a qualidade do biodiesel no país e estabelece um ponto de indução (PI) mínimo de 6 (seis) horas.

A (FIGURA 27) apresenta uma curva típica de acompanhamento de condutividade de um ensaio Rancimat.

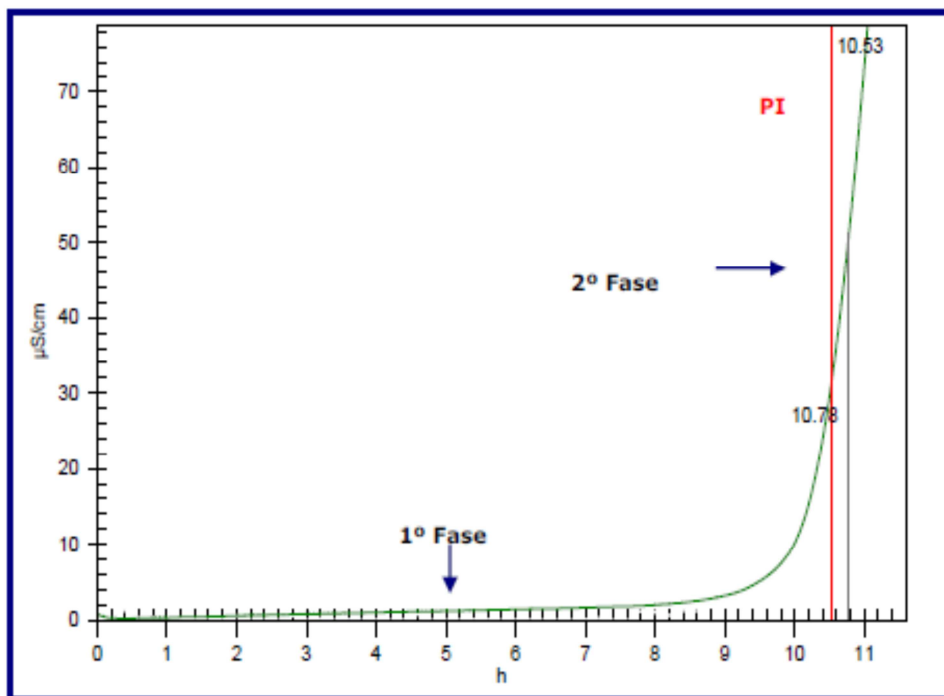


FIGURA 27 - CURVA TÍPICA DO ENSAIO DE ESTABILIDADE OXIDATIVA
FONTE: SANTOS, 2005

Na 1ª fase do ensaio de estabilidade oxidativa ocorre a formação de peróxidos (radicais livres) e as reações são lentas. Já na 2ª fase ocorre a formação de radicais de cadeias curtas, cetonas, aldeídos, ácidos carboxílicos (voláteis) e ácidos de peso molecular mais elevado, e a reação é rápida. O tempo de indução é calculado a partir das derivadas da curva e que delimita a 1ª da 2ª Fase.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. MATERIAIS

3.1.1. CARACTERIZAÇÃO DO BODIESEL UTILIZADO

A determinação das características do biodiesel é feita mediante o emprego das normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), das normas internacionais "American Society for Testing and Materials" (ASTM), da "International Organization for Standardization" (ISO) e do "Comité Européen de Normalisation" (CEN).

Na Europa, as especificações físico-químicas de qualidade para o biodiesel estão definidas na norma EN 14214. Nos Estados Unidos estas são regulamentadas pela norma ASTM D6751, enquanto no Brasil o mesmo é feito através da resolução Resolução 45 de 25/08/2014 da ANP.

No Brasil, esses parâmetros de qualidade encontram-se pré-fixados pela Portaria N°255 da ANP, cuja proposta foi baseada em normas já existentes na Alemanha (DIN) e nos Estados Unidos (ASTM).

O biodiesel utilizado neste trabalho foi adquirido da empresa BSBios de Marialva - PR, fabricado por transesterificação de óleo de soja com metanol, sendo este isento de qualquer tipo de antioxidantes, ou seja, puro. As análises físico-químicas desse biodiesel, foram realizadas no Laboratório de Análises de Combustíveis Automotivos da Universidade Federal do Paraná (LACAUTets/UFPR), e estão descritas na tabela abaixo:

TABELA 1 - ESPECIFICAÇÕES DO BODIESEL E MÉTODOS UTILIZADOS NESTA DISSERTAÇÃO E CITAÇÃO DAS NORMAS SEGUIDAS.

Parâmetros	Resultados	Limite	Unidade	Normas
Aspecto	Límpido e isento de impurezas	-	-	Visual
Cor	Amarelo	-	-	Visual
Estabilidade à oxidação a 110 °C	6,75	6 mín	horas	EN 14112
Massa específica a 20 °C	881,0	850 a 900	Kg/m ³	ASTM D4052
Viscosidade	4,2	3,0 a 6,0	mm ² /s	ASTM D445

Continua

TABELA 1 – ESPECIFICAÇÕES DO BIODIESEL E MÉTODOS UTILIZADOS NESTA DISSERTAÇÃO E CITAÇÃO DAS NORMAS SEGUIDAS.

				Conclusão
Parâmetros	Resultados	Limite	Unidade	Normas
Teor de água, máx.	168	350 máx.	mg/kg	ASTM D6304
Contaminação total, máx.	13,8	24 máx.	mg/kg	EN 12662
Ponto de fulgor	144,5	100 mín.	°C	ASTM D93
Teor de éster	94,0	96,5 mín.	% massa	EN14103
Resíduo de carbono (Método micro)	0,01	0,050 máx.	% massa	ASTM D 4530
Traços de enxofre por fluorescência	2,784	10 máx.	mg/kg	ASTM D5453
Sódio	<0,5	5 máx.	mg/kg	NBR 15556
Potássio	<0,5	5 máx.	mg/kg	NBR 15556
Cálcio	<1,0	5 máx.	mg/kg	NBR 15556
Magnésio	0,1	5 máx.	mg/kg	NBR 15556
Corrosividade ao cobre	1a	1 máx.	-	ASTM D 130
Número Cetano Derivado	48,2	-	DCN	ASTM D6890
Ponto de entupimento de filtro à frio	-1,0	10 máx.	°C	ASTM D6371
Índice de acidez	0,25794	0,26 máx.	mg K _{OH} /g	ASTM D664
Índice de iodo	121,14	Anotar	g/100g	EN 14111
Cinzas Sulfatadas	0,002	0,020 máx.	% massa	ASTM D874
Metanol	0,06	0,20 máx.	% massa	EN 14110
Glicerol total	0,19	0,25 máx.	% massa	NBR 15908
Glicerol livre	0,001	0,02 máx.	% massa	NBR 15908
Monoacilglicerol	0,57	0,80 máx	% massa	NBR 15908
Diacilglicerol	0,17	0,20 máx	% massa	NBR 15908
Triacilglicerol	0,11	0,20 máx	% massa	NBR 15908

FONTE: LACAUTets (2014)

Independente do tipo da rota tecnológica de produção, a aceitação do biodiesel no mercado brasileiro precisa ser assegurada e, para isso, é indispensável que esse produto esteja dentro das especificações da ANP.

3.1.2. COMPOSTOS ANTIOXIDANTES – TANINOS CONDENSÁVEIS

Os compostos testados nesta dissertação foram cedidos pela empresa TANAC, de Montenegro - RS.

Na (FIGURA 28) é mostrada parte da estrutura química do tanino utilizado, de interesse para este trabalho. Os principais grupamentos ativos antioxidantes são os grupos catecóis vistos a direita da estrutura.

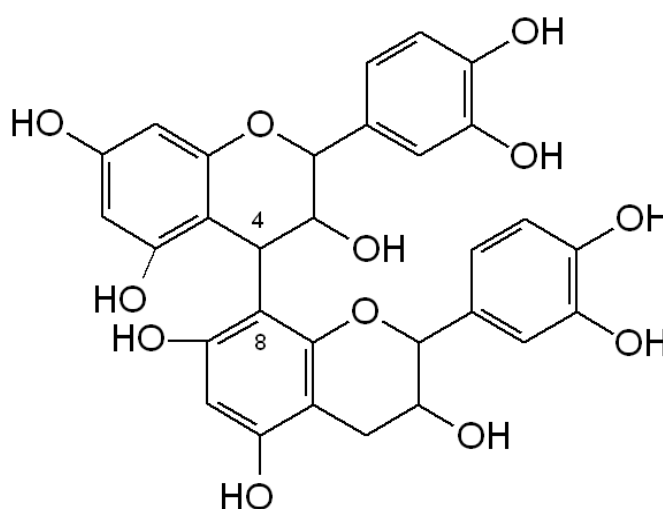


FIGURA 28 - ESTRUTURA QUÍMICA DE TANINOS CONDENSADOS
FONTE: WIKIPEDIA, 2014

3.2. MÉTODOS

3.2.1. DETERMINAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS (COM ÁCIDO GÁLICO) – MÉTODO FOLIN-CIOCALTEAU

A análise do extrato foi feita em espectrofotômetro de ultravioleta-visível (UV-VIS), em comprimento de onda de 725 nm, utilizando cubetas de quartzo de 1 cm de caminho óptico.

Como amostra controle, utilizou-se a solução obtida pela mistura entre 1 mL do reagente de Folin - Ciocalteu e 1 mL de solução de carbonato de sódio 30% (m/v), ajustando-se o volume a 10 mL com água destilada.

A concentração de polifenóis totais do extrato de tanino foi determinada utilizando-se uma curva analítica, estabelecida com soluções de concentração conhecida do ácido gálico. Os resultados foram expressos pela média de três determinações, em porcentagem da concentração de polifenóis totais, frente à concentração inicial da leitura das amostras com os desvios-padrões. Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico.100 mL⁻¹.

3.2.1.1. PREPARO DA SOLUÇÃO PADRÃO DE ÁCIDO GÁLICO 0,07 MG/ML

Pesou-se em um béquer de 100 mL, 0,016 g de ácido gálico, acrescentou-se ao béquer (já com o ácido gálico) 10 mL de etanol 99,5%, agitando-se até a dissolução total. Transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL e elevou-se até a marca com água destilada. Esta solução terá o dobro da concentração utilizada para realizar as análises. Isso se deve ao fato de que a massa necessária para preparar a solução padrão (0,07 mg/mL) é muito pequena, o que aumentaria o erro analítico. Assim, foi necessário diluir pela metade a concentração da solução preparada. Utilizando-se uma pipeta volumétrica, transferiu-se 25 mL da solução de ácido gálico, preparada anteriormente, para um balão volumétrico de 50 mL e elevou-se o volume até a marca com água destilada.

Separou-se 11 tubos de fundo cônico de 15 mL que foram identificados como: 0; 100; 200; 300; 400; 500; 600; 700; 800; 900 e até 1000 µL, onde cada número foi o volume em µL que foi transferido (utilizando pipetas automáticas) a cada um dos tubos cônicos, sendo que o tubo identificado com 0 (zero) foi o do controle, e não conteve a solução de ácido gálico. Após ter transferido os respectivos volumes de solução de ácido gálico 0,07 mg/mL, completou-se até 1 mL (onde, 1mL = 1000 µL) com solução de etanol 10% volumétrica. .

Em cada tubo cônico adicionou-se 1 mL (1000 µL) do reagente Folin-Ciocalteu e agitou-se várias vezes manualmente.

Em seguida, adicionou-se 1 mL (1000 µL) da solução aquosa de carbonato de sódio (Na_2CO_3) a 17%, volumétrico completando com água destilada até 10 mL.

Finalizando, deixou-se os tubos em repouso em local escuro durante 90 minutos.

3.2.1.2. PREPARO DA SOLUÇÃO DE AMOSTRA

Pesou aproximadamente de 0,017 g de amostra tanino da *Ácacia Negra* (*Acacia mearnsii*), solubilizando-a em 10 mL de etanol 99,5% até total dissolução. Transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL e elevou-se o volume até a marca com água destilada.

Em seguida, transferiu-se uma alíquota de 400 µL (com pipeta automática) da solução preparada para um tubo cônico, completando-se até 1 mL com solução de etanol 10% volumétrica.

No tubo cônico adicionou-se 1 mL (1000 µL) do reagente Folin-Ciocalteu e agitou-se várias vezes manualmente.

Adicionou-se 1 mL (1000 µL) da solução saturada de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 17% volumétrico, completando com água destilada até 10 mL.

Finalizando, deixou-se o tubo em repouso em local escuro durante 90 minutos.

3.2.1.3. PREPARAÇÃO DA CURVA PADRÃO E LEITURA DAS AMOSTRAS EM UV-VIS – 725 NM

Transferiu-se para a cubeta do espectrofotômetro a solução contendo o branco (tubo cônico que não contém a solução de ácido gálico) e efetuou-se a leitura, zerando o aparelho.

Transferiu-se a solução dos outros tubos cônicos para a segunda cubeta, começando da menos concentrada. Efetuou-se a leitura sem zerar o aparelho de uma amostra para outra.

Os resultados são expressos em percentagem com relação à quantidade de padrão. Definiu-se que o y corresponde à absorbância e o x ao

valor da concentração de polifenóis totais em mg/mL, expresso em relação ao padrão utilizado.

3.2.2. DETERMINAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS (COM ÁCIDO TÂNICO) – MÉTODO FOLIN-CIOCALTEAU – 760 NM

Utilizou-se o mesmo procedimento do ácido gálico, trocando-se apenas o reagente de ácido gálico pelo reagente de ácido tânico e a leitura do comprimento de onda foi feita em 760 nm.

3.2.3. DETERMINAÇÃO DA CURVA DO DPPH• (RADICAL 1,1-DIFENIL-2-PICRILHIDRAZIL) POR ESPECTROSCOPIA DE UV-VIS

Para a determinação da curva de calibração de DPPH•, foi preparada uma solução metanólica de DPPH 60 $\mu\text{mol/L}$ a qual foi diluída em concentrações variando de 10 $\mu\text{mol/L}$ a 50 $\mu\text{mol/L}$ e armazenadas em frasco âmbar (RUFINO et al., 2007).

Foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 515 nm para cada concentração, utilizando álcool metílico como branco, para calibrar o espectrofotômetro. Essas medidas foram feitas em triplicata. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu UV-2401 PC (DQ/UFPR).

A curva do DPPH foi construída com os valores das concentrações de DPPH ($\mu\text{mol/L}$) no eixo X e as respectivas absorbâncias no eixo Y, e então foi determinada a equação da reta, através do programa Excel.

- Atividade antioxidante do tanino

Pesou-se 12,5 g de tanino em um béquer de 50 mL, adicionou-se 20 mL de metanol 50 % (diluído com água destilada), homogeneizou-se e deixou-se em repouso por 60 minutos em temperatura ambiente. Após esse tempo, centrifugou-se a 3.000 rpm/min durante 60 minutos, transferindo-se em seguida o sobrenadante para um balão volumétrico de 50 mL.

A partir do resíduo da primeira extração, adicionou-se 20 mL de acetona 70% (diluída com água destilada), homogeneizou-se e deixou-se em

repouso por mais 60 minutos em temperatura ambiente. Em seguida centrifugou-se novamente a 3.000 rpm/min durante 60 minutos, logo após transferiu-se o sobrenadante para o balão volumétrico contendo o primeiro sobrenadante e completou-se o volume para 50 mL com água destilada.

A partir do extrato obtido anteriormente, preparou-se três diluições: foram colocados 0,5 mL do extrato obtido em balões volumétricos de 10, 20 e 30 mL, completando-se com água destilada, o ensaio foi realizado em triplicata.

Em um ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 0,1 mL de cada diluição do extrato, para tubos de ensaio contendo já 3,9 mL do radical DPPH• e homogeneizou-se.

Utilizou-se 0,1 mL da solução controle (onde, em um balão volumétrico de 100 mL, adicionou-se 40 mL da solução de álcool metílico a 50% volumétrico (diluído com água destilada) e 40 mL da solução de acetona a 70% volumétrica (diluída com água destilada) completando o volume com água destilada) com 3,9 mL da solução do radical DPPH• e homogeneizou-se.

O álcool metílico foi utilizado como branco para calibrar o espectrofotômetro. As leituras em comprimento de onda, $\lambda = 515$ nm, foram monitoradas a cada minuto, quando foi observada a redução da absorbância até a sua estabilização.

A determinação da porcentagem da atividade antioxidante foi feita através da fórmula expressa na equação (7):

$$\% \text{ Atividade Antioxidante} = 100 - [(Abs_{\text{amostra}} - Abs_{\text{branco}}) \times 100] / Abs_{\text{controle}} \quad (7)$$

Para o cálculo do IC₅₀ foi utilizada a equação da reta obtida para cada diluição, substituindo o valor de y por 50 para obtenção da concentração da amostra, com capacidade de reduzir em 50% a quantidade de DPPH• na solução inicial.

A partir do resultado obtido (mg/L) encontrado na equação (8), dividiu-se por 1000 para obter o valor em gramas.

3.2.4. PODER ANTI-RADICAL

O poder anti-radical é a relação inversa de IC_{50} ($1/IC_{50}$), também é uma medida utilizada para a comparação de resultados e expressa mais claramente os valores obtidos. Dessa maneira, quanto maior o poder antiradical, maior a atividade antioxidante da amostra em relação ao radical DPPH •.

O IC_{50} , quantidade de antioxidante necessária para reduzir o radical DPPH • em 50% da concentração inicial, significa que, quanto maior o IC_{50} , menor a atividade antioxidante da amostra, enquanto que o poder antiradical expressa uma relação direta da atividade antioxidante.

3.2.5. TEOR DE COMPOSTOS TANANTES

Para a quantificação de taninos, fez-se a pesagem de 0.017 g de tanino, em seguida colocou-se em água sob refluxo por 30 minutos. Posteriormente, o material foi filtrado, chamando-o assim de solução 1. A 20 mL do filtrado (solução 1) foi adicionado 0,2 g de pó de pele (Hide-Powder – desenvolvido pela A.L.C.A – American Leather Chemist's Association, muito utilizado na indústria de couro), fornecida pela TANAC, que foram deixados sob agitação por 1 h, chamando-o assim de solução 2. Alíquotas de 5 mL do filtrado das soluções 1 e 2 foram transferidas para 2 balões volumétricos de 25 mL, os quais continham 2 mL do reagente de Follin-Ciocalteau. O volume foi completado com solução de carbonato de sódio a 10,6% (v/v). A absorbância foi determinada no comprimento de onda $\lambda = 760$ nm após 30 minutos. O teste foi feito em triplicata e a porcentagem de taninos totais foi calculada com base na diferença dos valores de absorção da solução 1 e 2, calculados com uma curva de calibração utilizando o pirogalol como padrão de compostos tanantes (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010)

3.2.6. TESTE DE RACIMAT (EN 14112)

Para estudar a estabilidade oxidativa e determinar o período de indução do biodiesel de soja aditivado com o antioxidante natural tanino em diversas concentrações, as amostras foram analisadas de acordo com método

Rancimat, segundo a Norma Europeia (EN 14112) utilizando-se o equipamento de marca METROHM, modelo Rancimat 873 (FIGURA 29) do LACAUT/UFPR.



FIGURA 29 - EQUIPAMENTO DE METROHM RANCIMAT, MODELO 873 (LACAUT/UFPR)
FONTE: WIKIPEDIA, 2014

O ensaio de Rancimat foi realizado sob fluxo de ar de 10 L/h, em $3 \text{ g} \pm 0,01 \text{ g}$ de biodiesel aditivado ou não, inseridos no tubo ou vaso de reação, que foi colocado dentro do bloco aquecido a temperatura de $110 \text{ }^\circ\text{C}$. Na célula de condutividade foram colocados 50 mL de água ultra pura. Sob o aquecimento de $110 \text{ }^\circ\text{C}$, o biodiesel é prematuramente envelhecido sofrendo decomposição térmica, liberando ácidos orgânicos leves como fórmico e acético que, sob a forma de vapor, borbulham na célula fazendo aumentar a condutividade da solução. O tempo de indução é determinado pela medida da condutividade, a avaliação é totalmente automática. A (FIGURA 30) demonstra o esquema do ensaio de estabilidade à oxidação pelo equipamento Rancimat.

Para adicionar o tanino ao biodiesel, primeiramente o mesmo foi dissolvido em n- butildietanolamina (BDEA) a $\geq 98,6\%$ da Sigma Aldrich, ou monoetanolamina (MEA) a $\geq 98,0\%$ da Vetec Química Fina LTDA, ou dietanolamina (DEA) a $\geq 98,6\%$ da Sigma Aldrich e ou hidropirilamina (HPA) a $\geq 98,6\%$ da Sigma Aldrich.

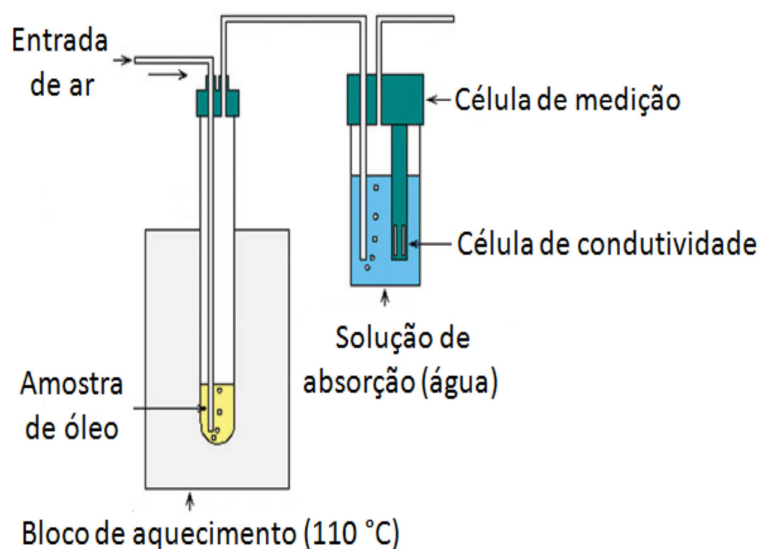


FIGURA 30 - ESQUEMA DO ENSAIO DE ESTABILIDADE À OXIDAÇÃO PELO EQUIPAMENTO RANCIMAT.

As concentrações nos testes realizados com o BDEA encontram-se na tabela 2, com o MEA na tabela 3, com o HPA na tabela 4 e com DEA na tabela 5:

TABELA 2 - MISTURAS BIODIESEL/TANINO/BDEA PARA O PRIMEIRO TESTE DE RANCIMAT

Amostra	Biodiesel (g)	Tanino (ppm)	BDEA (ppm)
1	50	0	0
2	50	300	0
3	50	0	500
4	50	300	500
5	50	300	400
6	50	300	300
7	50	300	200
8	50	300	100

TABELA 3 - MISTURAS BIODIESEL/TANINO/MEA PARA O SEGUNDO TESTE DE RANCIMAT

Amostra	Biodiesel (g)	Tanino (ppm)	MEA (ppm)
1	50	0	0
2	50	300	0
3	50	0	500
4	50	300	500
5	50	300	400
6	50	300	300
7	50	300	200
8	50	300	100

TABELA 4 - MISTURAS BIODIESEL/TANINO/HPA PARA O TERCEIRO TESTE DE RANCIMAT

Amostra	Biodiesel (g)	Tanino (ppm)	HPA(ppm)
1	50	0	0
2	50	300	0
3	50	0	500
4	50	300	500
5	50	300	400
6	50	300	300
7	50	300	200
8	50	300	100

TABELA 5 - MISTURAS BIODIESEL/TANINO/DEA PARA O QUARTO TESTE DE RANCIMAT

Amostra	Biodiesel (g)	Tanino (ppm)	DEA (ppm)
1	50	0	0
2	50	300	0
3	50	0	500
4	50	300	500
5	50	300	400
6	50	300	300
7	50	300	200
8	50	300	100

A escolha da concentração padrão de 300 ppm de tanino puro à adição ao biodiesel também puro é devido aos bons resultados que pôde-se obter mesmo em baixa concentração deste antioxidante.

O equipamento para o teste de Rancimat tem a capacidade de analisar 8 amostras ao mesmo tempo, sendo cada teste feito em triplicata. Os testes foram realizados no Laboratório de Análises de Combustíveis Automotivos (LACAUTets/UFPR).

3.2.7. DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO TANINO : AMINA POR ESPECTROSCOPIA DE EPR

Os espectros de EPR foram registrados em espectrômetro Bruker EMX, em temperatura ambiente, empregando-se 100 kHz de frequência de modulação e faixas de campo magnético de 5000 e 50 gauss. As medidas de EPR foram efetuadas com amostras sólidas e líquidas, que foram

condicionadas em tubo de quartzo e levadas para análise no espectrômetro. O equipamento está localizado no Departamento de Química – UFPR.

As amostras foram preparadas de acordo com as tabelas de 2 a 5, sendo que também foram realizadas as análises individuais do tanino, BDEA, MEA, DEA e HPA, para que assim se possa determinar a intensidade e o tipo de radicais livres de cada composto.

Estas análises foram divididas em duas etapas. A primeira etapa foi: realizar o primeiro ensaio logo após o preparo das amostras e a segunda etapa consiste em: esperar o decorrer de duas semanas, para realizar novamente o mesmo ensaio. Isso dará a certeza do aumento ou diminuição de radicais livres durante o processo de armazenamento do biodiesel.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. TESTE DE RANCIMAT

Todos os resultados obtidos mostraram que, a estabilidade oxidativa obteve aumento para todo o biodiesel aditivado com o tanino.

A (FIGURA 31) apresenta a estabilidade oxidativa de acordo com as composições da tabela 2, a (FIGURA 32) apresenta a estabilidade oxidativa de acordo com as composições das tabelas 3, a (FIGURA 33) apresenta a estabilidade oxidativa de acordo com as composições das tabelas 4 e a (FIGURA 34) apresenta a estabilidade oxidativa de acordo com as composições das tabelas 5.

O biodiesel obtido a partir do óleo de soja, assim como outros com insaturações, normalmente possui pouco ou nada de antioxidantes naturais e assim, possui menor estabilidade à oxidação.

No ensaio que gerou a (FIGURA 35) não se usa antioxidantes. É possível perceber a baixa estabilidade oxidativa do biodiesel sem o uso de aditivos pelo Tempo de Indução próximo ao limite de 6 horas da especificação da ANP. Neste caso, o valor obtido é ligeiramente diferente ao obtido na caracterização inicial do biodiesel (TABELA 1), mas essa diferença é esperada pelo método, que tem incerteza expandida de medição $U = 1,0$ h com probabilidade de aproximadamente 95% e com fator de abrangência $k = 2,00$.

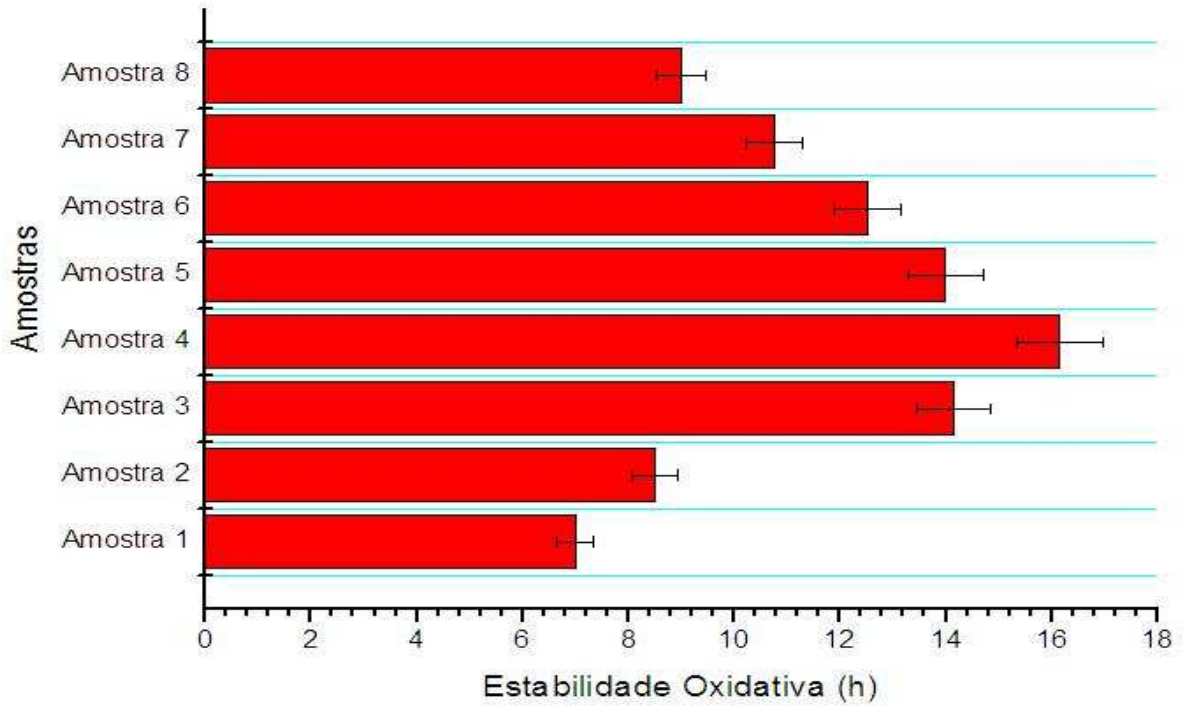


FIGURA 31 - AMOSTRA BIODIESEL/TANINO/BDEA PARA O PRIMEIRO TESTE NO RANCIMAT

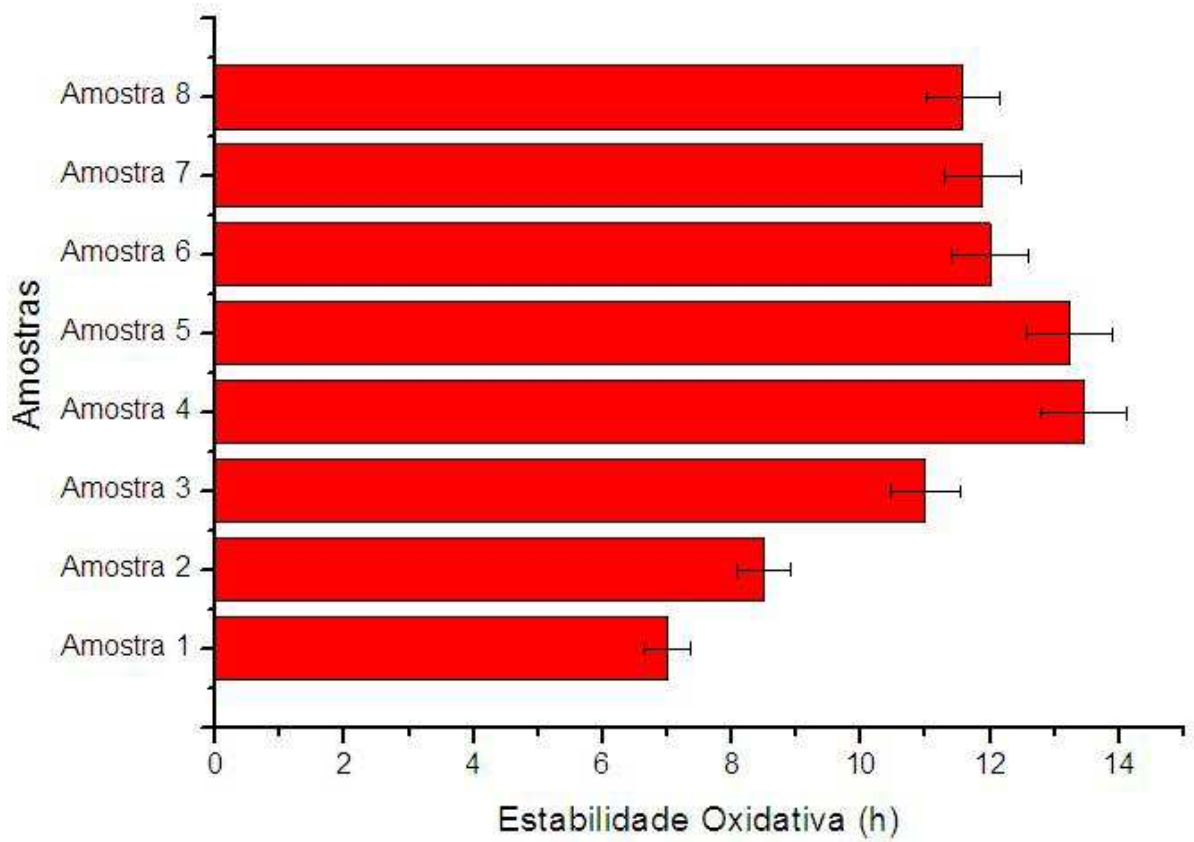


FIGURA 32 - AMOSTRA BIODIESEL/TANINO/MEA PARA O SEGUNDO TESTE NO RANCIMAT

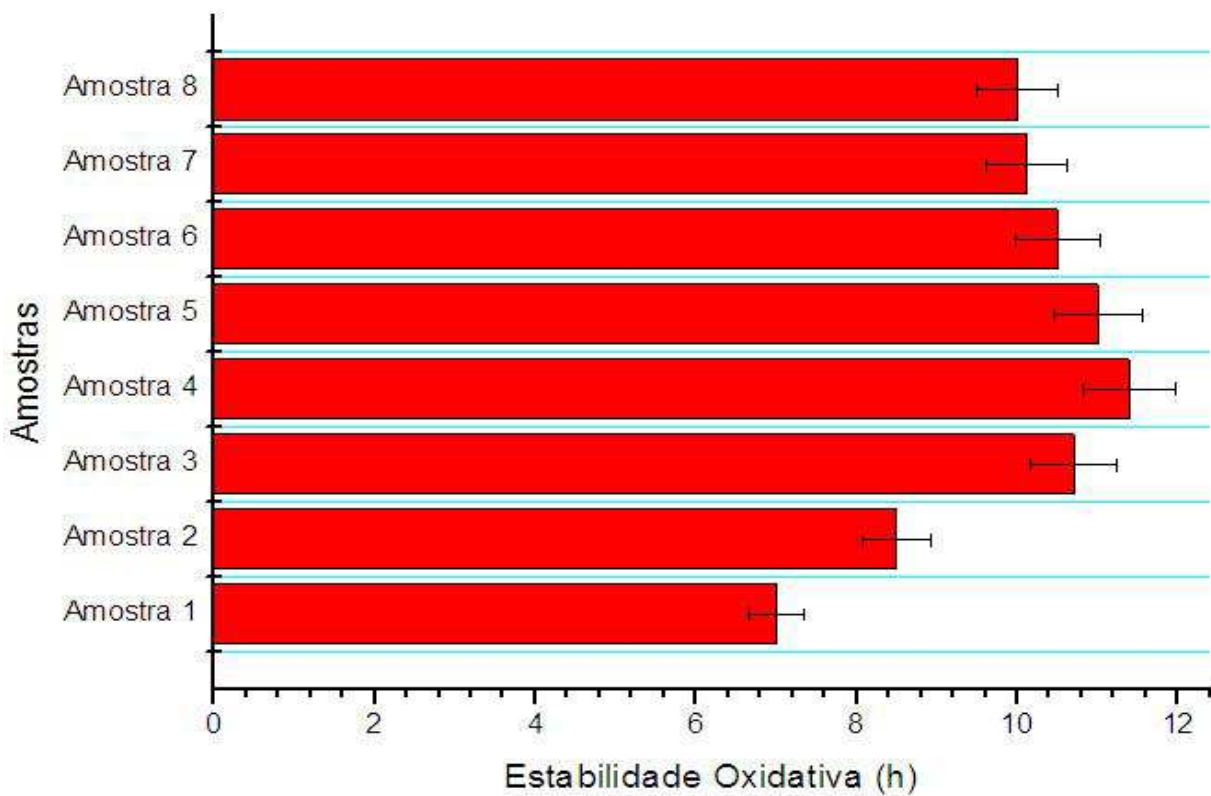


FIGURA 33 - AMOSTRA BIODIESEL/TANINO/HPA PARA O TERCEIRO TESTE NO RANCIMAT

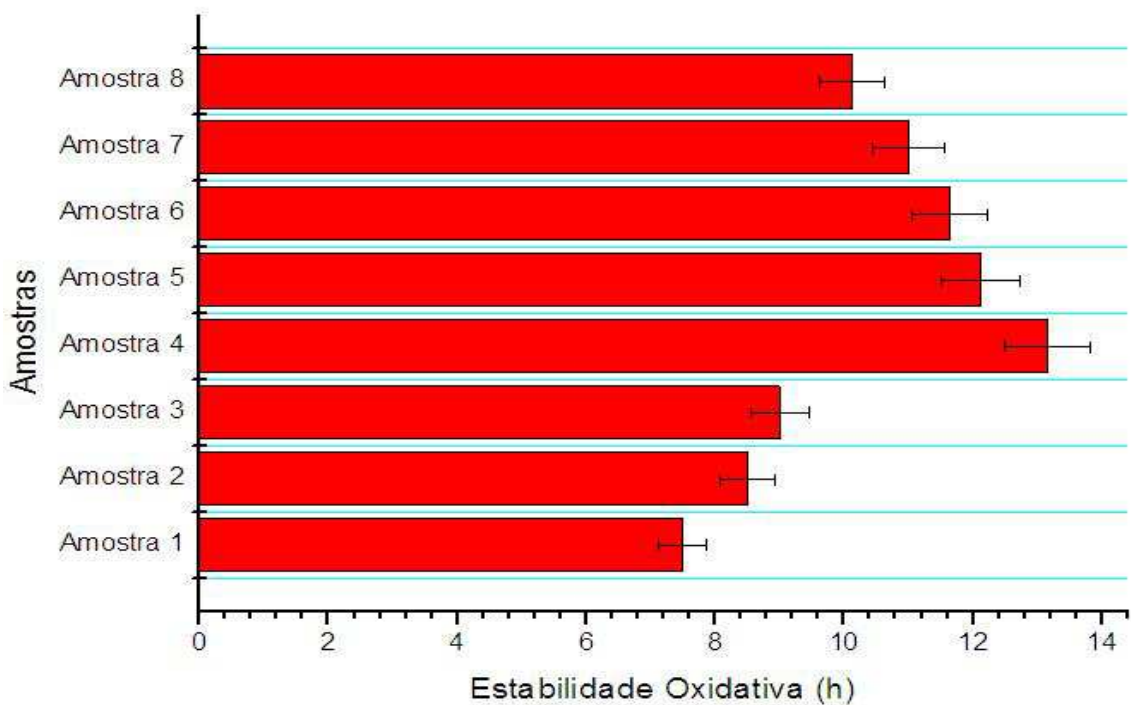


FIGURA 34 - AMOSTRA BIODIESEL/TANINO/DEA PARA O QUARTO TESTE NO RANCIMAT

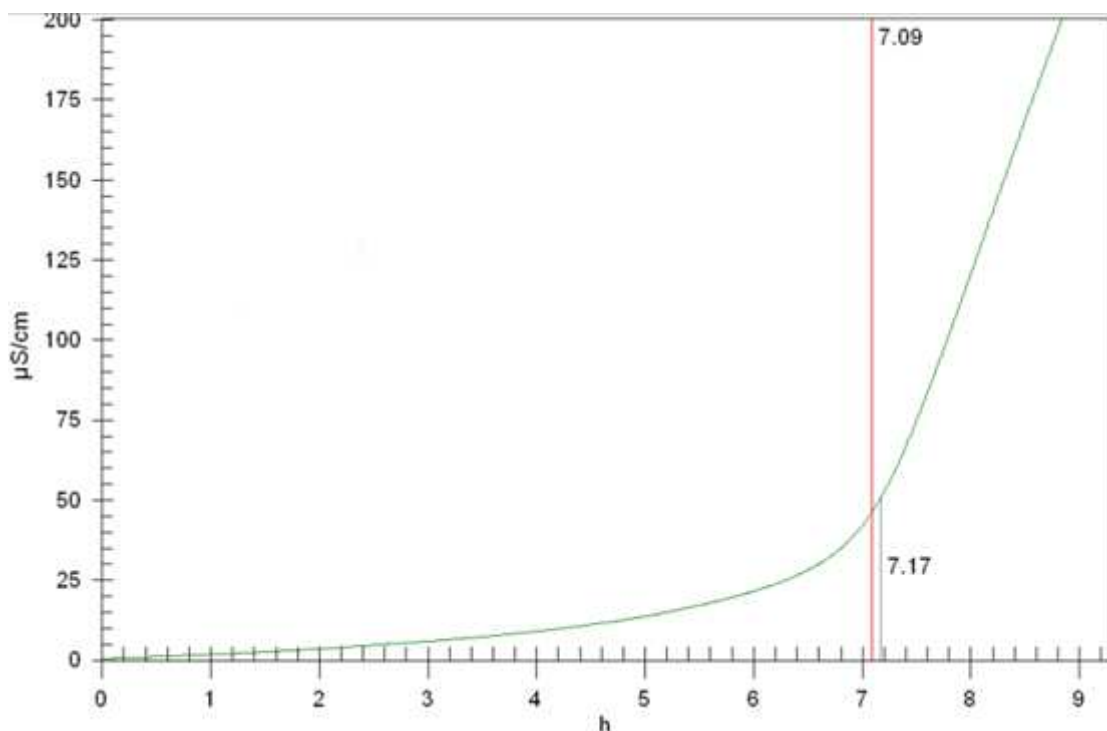


FIGURA 35 - CONDUTIVIDADE EM FUNÇÃO DO TEMPO, GRÁFICO GERADO PELO PROGRAMA DE CONTROLE DO ENSAIO RANCIMAT DURANTE A AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL SEM ADITIVOS.
FONTE: A AUTORA

No ensaio que gerou a (FIGURA 36), ao biodiesel foi adicionado 300 ppm de tanino dissolvido em 500 ppm de BDEA. Percebe-se a melhoria da estabilidade oxidativa, pois o Tempo de Indução mais que dobrou.

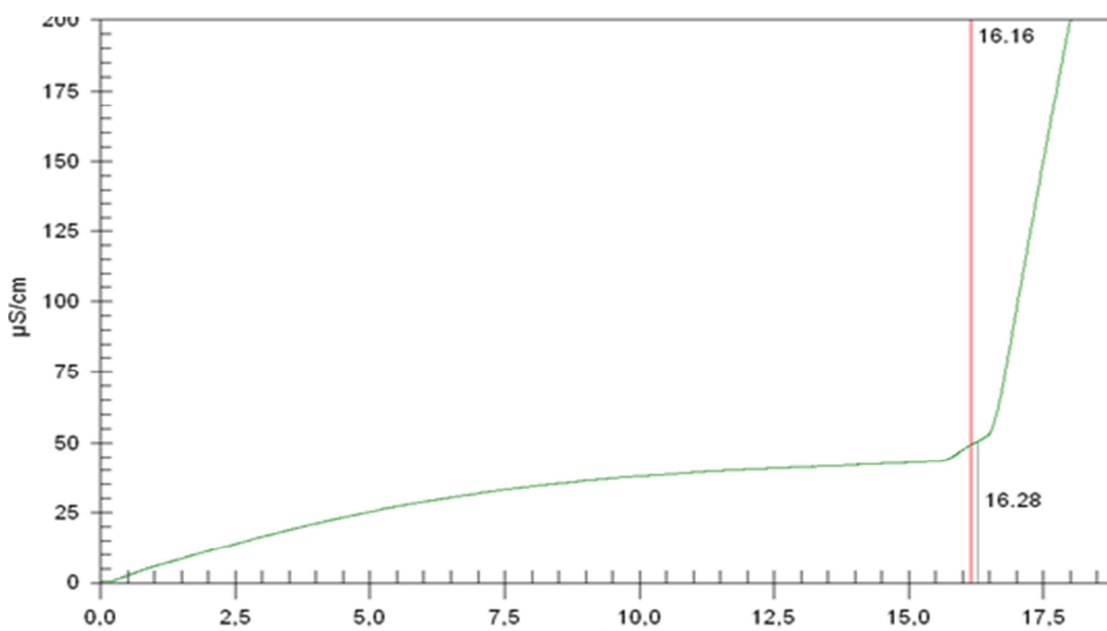


FIGURA 36 - CONDUTIVIDADE EM FUNÇÃO DO TEMPO, GRÁFICO GERADO PELO PROGRAMA DE CONTROLE DO ENSAIO RANCIMAT DURANTE A AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL ADITIVADO COM TANINO/BDEA.
FONTE: A AUTORA

Como o nitrogênio é menos eletronegativo que o oxigênio, as ligações N – H apresentam-se menos polares que as ligações O – H, presentes nos alcoóis e ácidos carboxílicos. Por essa razão, as aminas formam ligações de hidrogênio fracas, mais fracas que os alcoóis, com pesos moleculares semelhantes. Como as ligações são mais fracas, compreende-se que os pontos de ebulição das aminas também sejam mais baixos. Então, com o aquecimento da amostra, as ligações do BDEA, MEA, DEA e HPA são quebradas, liberando as aminas que são arrastadas para a solução de medida. Logo se explica os motivos das quebras das ligações das aminas.

Aumentando a temperatura, há o despreendimento de outros compostos, como os ácidos fórmico e acético que, ao atingirem a solução na célula de medição, provocam a liberação de mais H⁺ na água, aumentando a condutividade no equipamento Rancimat. Ao restabelecer o equilíbrio de íons na solução de medida, a condutividade volta ao seu valor inicial e passa a aumentar gradativamente até que ocorra a formação dos ácidos orgânicos voláteis, que provocam o rápido aumento na condutividade, caracterizando o que é definido como tempo de indução.

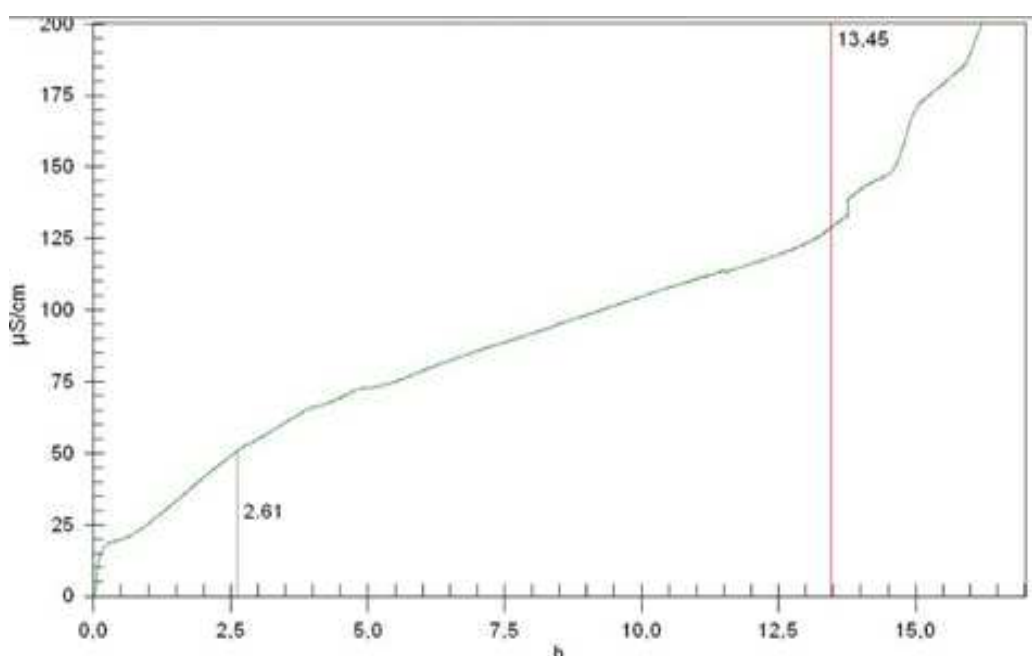


FIGURA 37 - CONDUTIVIDADE EM FUNÇÃO DO TEMPO, GRÁFICO GERADO PELO PROGRAMA DE CONTROLE DO ENSAIO RANCIMAT DURANTE A AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL ADITIVADO COM TANINO/MEA.
FONTE: A AUTORA

Uma possível causa de aumento de condutividade na água ultrapura seria a presença de ácido carbônico devido à absorção de CO_2 , que pode vir do ar atmosférico ou de algum produto de degradação térmica. Esse efeito ocorre para o caso do biodiesel sem aditivo e com aditivo e pode estar associado com o aumento inicial e lento da condutividade na água ultrapura.

O MEA é mais reativo que o DEA por ser uma amina primária. Por ser uma amina secundária, o DEA pode ser mais resistente à degradação, menos corrosivo e menos volátil. Entretanto na (FIGURA 37 e 38), não se percebeu diferença de desempenho entre o aditivo tanino/MEA e o tanino/DEA.

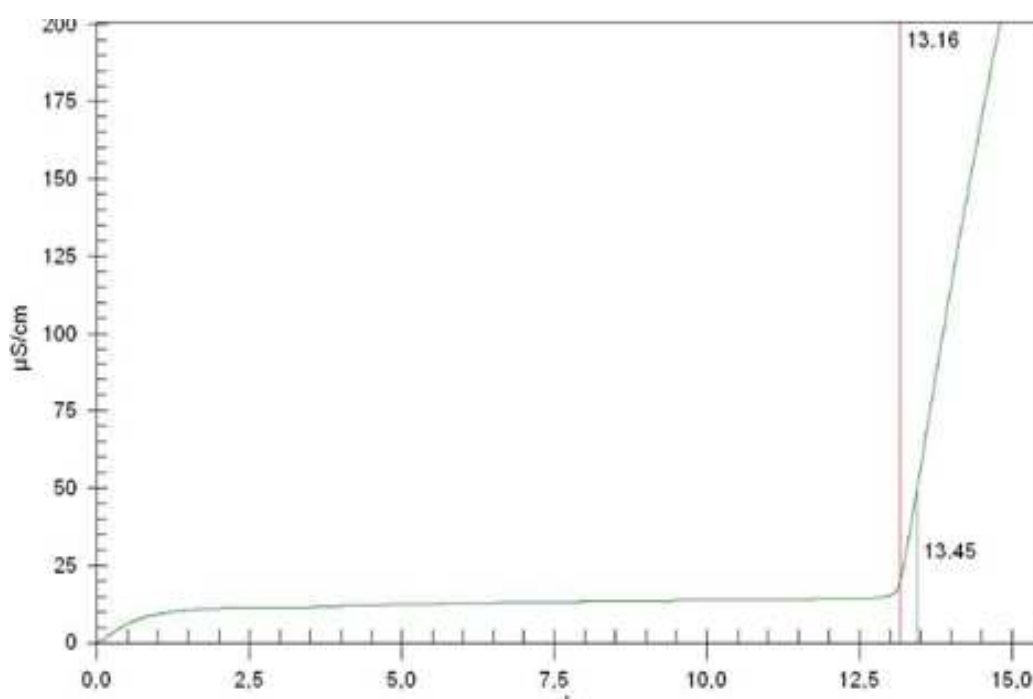


FIGURA 38 - CONDUTIVIDADE EM FUNÇÃO DO TEMPO, GRÁFICO GERADO PELO PROGRAMA DE CONTROLE DO ENSAIO RANCIMAT DURANTE A AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL ADITIVADO COM TANINO/DEA. FONTE: A AUTORA

A amina primária (MEA) e secundária (DEA) por serem reativas acabam por levar à formação de carbamatos estáveis com o CO_2 (o qual é inserido na amostra, pelo aparelho de Rancimat), causando uma limitação estequiométrica que pode contribuir para o aumento da fase 1 da curva de condutividade e, ao mesmo tempo, diminuindo o tempo na estabilidade oxidativa do MEA e DEA, quando comparado ao BDEA, por outro mecanismo de geração de íons (YURKANIS, 2006).

A absorção de CO_2 com aminas primárias e secundárias é estericamente impedida, e já no caso com o HPA (FIGURA 39), é geralmente descrita pelo mecanismo zwitterion. Este consiste em um mecanismo de 2 etapas, o qual sugere a reação entre a amina e CO_2 , a qual ocorre através da formação de um zwitterion (espécie iônica com carga positiva e negativa no mesmo grupo de átomos), como intermediário. Este, por sua vez, sofre desprotonação por uma base (geralmente uma segunda molécula de amina), resultando na formação de um carbamato.

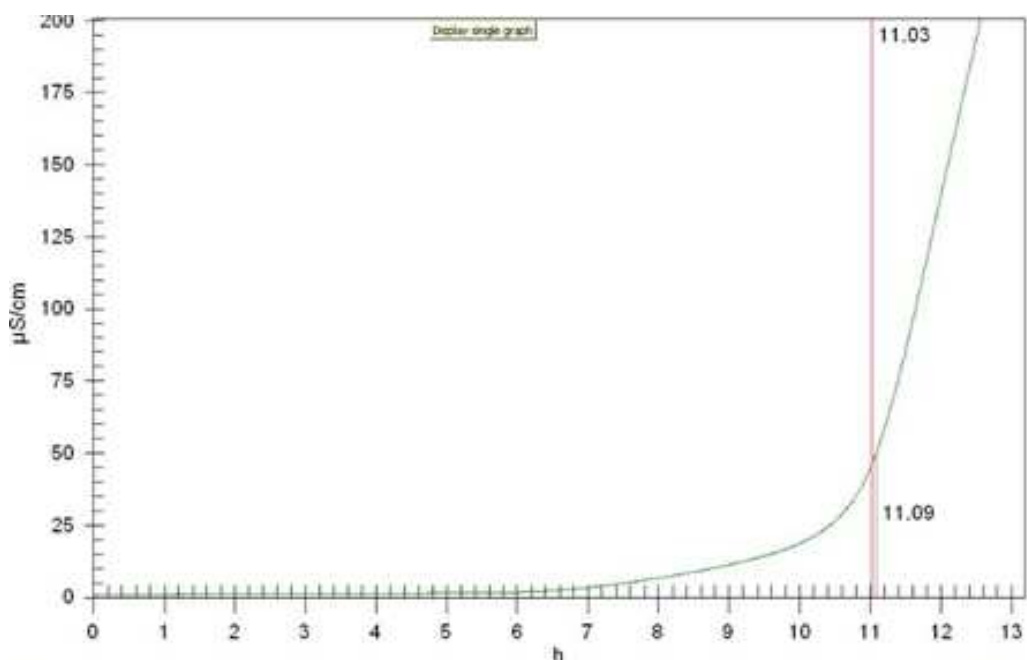


FIGURA 39 - CONDUTIVIDADE EM FUNÇÃO DO TEMPO, GRÁFICO GERADO PELO PROGRAMA DE CONTROLE DO ENSAIO RANCIMAT DURANTE A AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL ADITIVADO COM TANINO/HPA. FONTE: A AUTORA

Já a absorção com aminas terciárias é geralmente descrita pela hidrólise do CO_2 , catalisada por uma base. Por não apresentarem hidrogênio ligado ao átomo de nitrogênio, as aminas terciárias não seriam capazes de reagir diretamente com CO_2 , com a formação de um zwitterion. Essas aminas, então, teriam um efeito, base catalítico, na hidrólise do CO_2 . Por último, o mecanismo termolecular onde se considera que uma amina reage simultaneamente com uma molécula de CO_2 e uma molécula de uma base, fazendo com que esse complexo se quebre facilmente, voltando a formar CO_2 e amina, enquanto uma pequena fração reage com uma segunda molécula de amina, gerando produtos iônicos, terminado assim a análise no Rancimat, já

que estes produtos iônicos iriam para o recipiente com os eletrodos, o qual contém a água ultra-pura, detectando o fim do procedimento experimental, acusando oxidação do biodiesel aditivado (YURKANIS, 2006).

Percebe-se o efeito sinérgico entre o antioxidante tanino e as aminas, já que há uma potencialização da eficácia dessas substâncias quando utilizadas em conjunto.

A ordem de dissolução e de maior interatividade do tanino com o biodiesel e, com o melhor resultado, se dá nesta ordem: BDEA > MEA > DEA > HPA. Isso ocorre devido ao BDEA ter melhor interação com o biodiesel, facilitando a dissolução do tanino. As (FIGURAS 40 a 43) referem-se as estruturas químicas das aminas utilizadas neste trabalho.

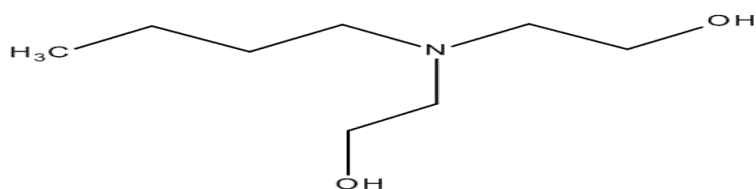


FIGURA 40 - ESTRUTURA QUÍMICA DO BDEA
FONTE: WIKIPEDIA, 2014

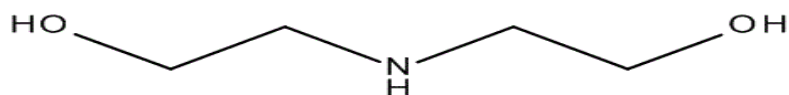


FIGURA 41 - ESTRUTURA QUÍMICA DO DEA
FONTE: WIKIPEDIA, 2014



FIGURA 42 - ESTRUTURA QUÍMICA DO MEA
FONTE: WIKIPEDIA, 2014

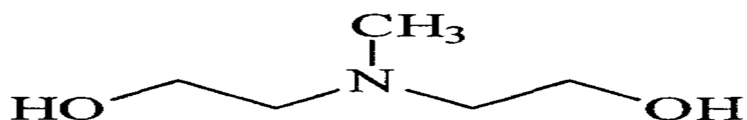


FIGURA 43 - ESTRUTURA QUÍMICA DO HPA
FONTE: WIKIPEDIA, 2014

4.2. DETERMINAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS (COM ÁCIDO GÁLICO) – MÉTODO FOLIN-CIOCALTEAU

O teor de polifenóis totais contidos no extrato bruto foi determinado pelo método calorimétrico que utiliza o reagente Folin-Ciocalteu. Os resultados são expressos como equivalentes ao ácido gálico ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de extrato).

As leituras de absorvância da solução padrão de ácido gálico realizada na frequência de 725 nm e da amostra, foram feitas em triplicata e, portanto, os resultados apresentados referem-se à média da absorvância para cada concentração (em $\mu\text{g}/\text{mL}$) utilizada nas leituras. A equação da curva padrão de ácido gálico foi: $y = 0,781x + 0,040$, onde x representa a concentração de polifenóis correspondente a ácido gálico e y representa a absorvância. A (FIGURA 44) apresenta a curva analítica construída com diferentes concentrações da solução padrão de ácido gálico.

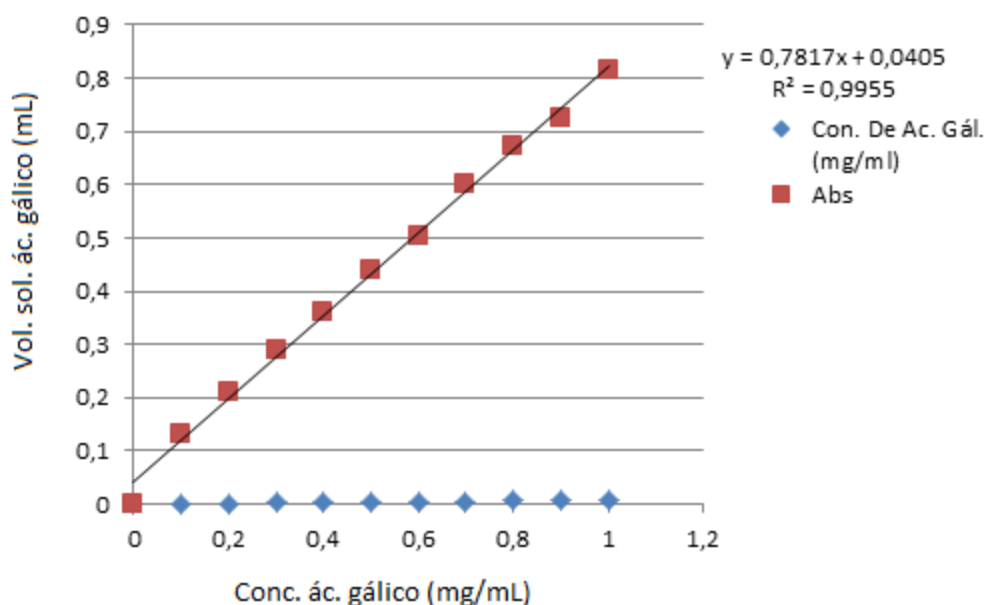


FIGURA 44 - CURVA ANALÍTICA DE ABSORVÂNCIA DA SOLUÇÃO PADRÃO DE ÁCIDO GÁLICO

A partir da curva analítica obtida com a solução padrão de ácido gálico, pôde-se calcular o teor de fenóis totais existentes nas amostras de tanino da *Ácacia Negra - Acacia mearnsii*, utilizando a equação da reta da solução

padrão de ácido gálico. Os teores finais são expressos pela média dos valores da absorbância de cada solução de leitura das amostras.

O teor de polifenóis totais em porcentagem foi de 47,5%.

4.3. DETERMINAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS (COM ÁCIDO TÂNICO)

Esse método espectroscópico de Folin-Ciocalteu baseia-se na redução dos ácidos fosfomolibdico-fosfotúngstico pelas hidroxilas fenólicas, originando óxidos azuis de tungstênio (W_8O_{23}) e de molibdênio (Mo_8O_{23}), um complexo que absorve em comprimento de onda de $\lambda_{m\acute{a}x} = 760$ nm.

As leituras de absorbância da solução padrão de ácido tânico e da amostra foram feitas em triplicata e os resultados apresentados referem-se à média da absorbância para cada concentração (em $\mu\text{g/mL}$) utilizada nas leituras. A equação da curva padrão de ácido tânico foi: $y = 0,6121x + 0,048$, onde x representa a concentração de polifenóis correspondente a ácido tânico e y representa a absorbância.

A (FIGURA 45) apresenta a curva analítica construída com diferentes concentrações da solução padrão de ácido tânico.

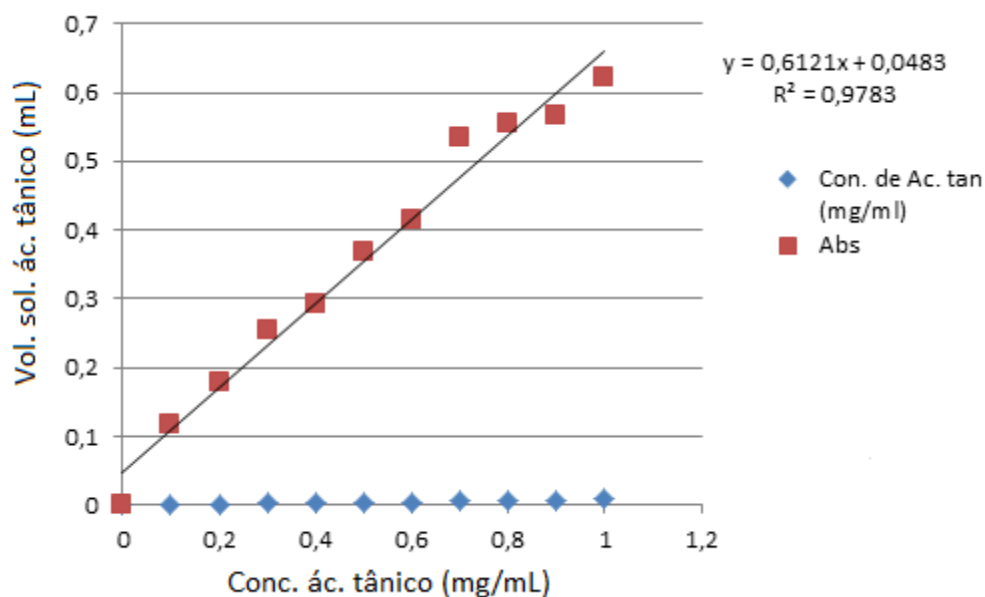


FIGURA 45 - CURVA ANALÍTICA DE ABSORVÂNCIA DA SOLUÇÃO PADRÃO DE ÁCIDO TÂNICO

O padrão de ácido tânico foi utilizado por ser um tanino hidrolisável e, também, por caracterizar os taninos totais pelo método espectrofotométrico.

O teor de polifenóis totais em porcentagem foi de 33%.

TABELA 6 - RESULTADOS DAS PERCENTAGENS DE POLIFENÓIS TOTAIS PARA A AMOSTRA DE ACÁCIA NEGRA UTILIZANDO OS PADRÕES DE ÁCIDO GÁLICO E TÂNICO.

Amostra	Porcentagem de Polifenóis Totais (%)	
	Padrão ácido gálico	Padrão ácido tânico
Tanino de Acácia Negra	47,5	33

Não se costuma utilizar substâncias não puras como padrões. Devido à complexidade das amostras de tanino, não é possível quantificar um composto específico, mas compostos com estruturas químicas semelhantes ao padrão utilizado.

4.4. ESPECTROSCOPIA DE UV-VIS - MÉTODO DO 2,2 – DIFENIL-1-PICRIL-HIDRAZILA (DPPH•)

A atividade antioxidante foi realizada pelo método fotocolorimétrico do radical livre estável 2,2-difenil-1-picril-hidrazila – DPPH. O qual é um radical estável artificial, que não é produzido em seres vivos, este método se baseia no sequestro do radical DPPH• pelos antioxidantes, que produz uma diminuição de absorção em 515 nm. Quando uma solução de DPPH é misturada com uma substância que pode doar um átomo de hidrogênio, a forma reduzida do radical gerado é acompanhada pela perda de cor, mostrada na (FIGURA 46).

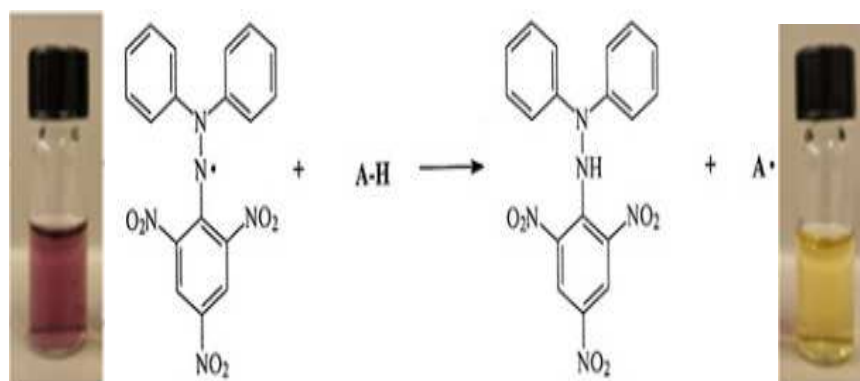


FIGURA 46 - REAÇÃO DA MUDANÇA DE COR DO DPPH
 FONTE: WIKIPEDIA, 2014

O radical DPPH• possui a coloração púrpura, por possuírem elétrons livres, e perdem esta cor quando um radical de hidrogênio doado por uma molécula antioxidante entra em ressonância com o radical DPPH•, sendo reduzido e formando o difenil-1-picril-hidrazina, de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento da absorção em 515 nm (CHANDRASEKAR; MADHUSUDHANA; RAMAKRISHNA, 2006; KIM; THOMAS, 2006; RAYMUNDO; HORTA; FETT, 2004).

A partir dos resultados obtidos, determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres e/ou a porcentagem de DPPH• remanescente no meio reacional. A porcentagem de atividade antioxidante corresponde à quantidade de DPPH• consumida pelo antioxidante, sendo que, a quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH• em 50% é denominada concentração eficiente (CE₅₀) ou também chamada de concentração inibitória (CI₅₀). Logo, quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a sua IC₅₀ e maior a sua atividade antioxidante (SOUSA et al., 2007).

A atividade antioxidante do DPPH está relacionada com a presença de grupamentos hidroxilas dos flavonóides, sendo que, os polifenólicos apresentam maior atividade que os monofenólicos, por isso, a posição do segundo e terceiro grupamento hidroxila também são importantes, já que, quando em posição *orto* ou *para* o poder antioxidante é maior que em *meta* (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995). A atividade antioxidante de compostos fenólicos é devida, principalmente, as suas propriedades redutoras, que lhe permitem atuar como reduzido, agentes e doadores de hidrogênio (FIGURA 47).

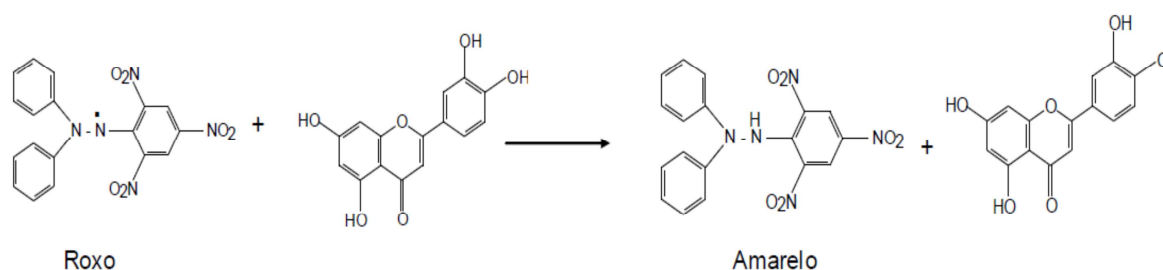
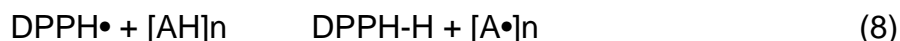


FIGURA 47 - EQUAÇÃO BÁSICA DA REAÇÃO DO DPPH COM UM FLAVONOIDE

A avaliação da atividade antioxidante utilizando o DPPH•, é baseado na seletividade do radical livre estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazil em reagir com

substâncias doadoras de $H\bullet$, incluindo compostos fenólicos. A reação genérica do DPPH seria:



Quanto maior for o potencial antioxidante de um dado composto ou amostra, mais descolorada ficará a solução após a reação com o DPPH, e conseqüentemente haverá uma menor absorção em 515 nm, ou seja, para um valor de capacidade sequestradora de radicais livres (Abs) maior que 80 % em uma amostra medida naquele comprimento de onda, indica-se forte atividade antioxidante da mesma, na concentração analisada. De acordo com os resultados obtidos, o extrato apresentou um bom desempenho no que se refere a sua capacidade sequestradora de radicais livres, com 70% para a concentração de $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$.

O gráfico (FIGURA 48) refere-se à curva de calibração empregada para o experimento de DPPH, plotando-se o valor médio das absorbâncias obtidas *versus* concentração da solução. O valor de R^2 obtido para a curva foi de 0,998.

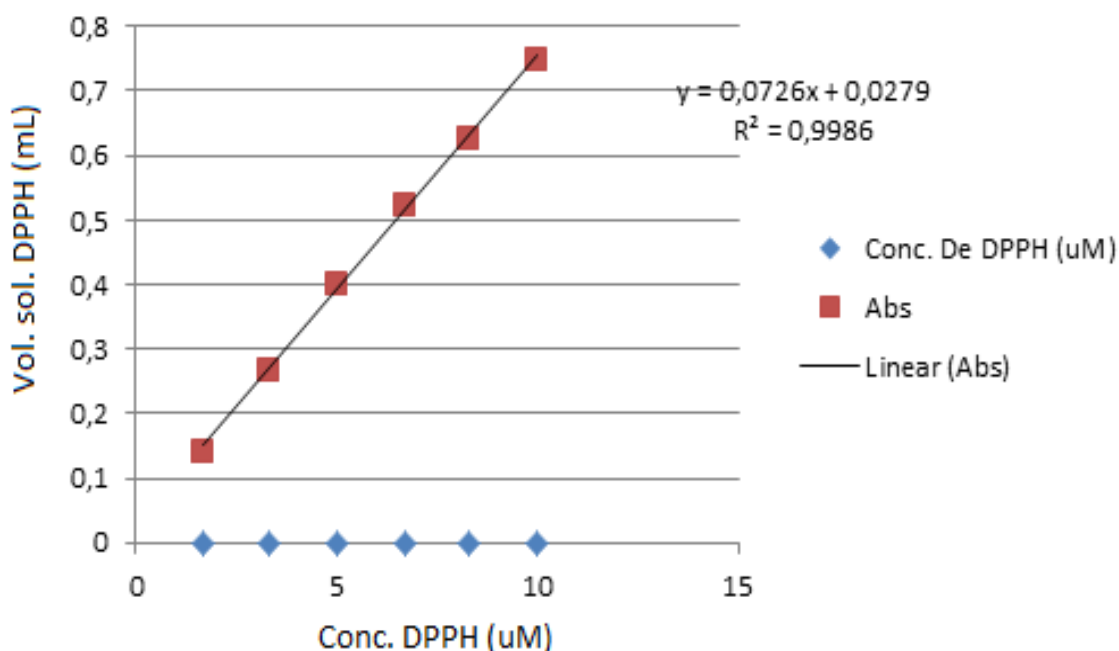


FIGURA 48 - CURVA DE DPPH X ABSORBÂNCIA

A redução do $DPPH\bullet$ é acompanhada pelo monitoramento do decréscimo na absorbância em comprimento de onda característico em 515 nm durante a reação, mostrado na tabela 8:

TABELA 7 - ABSORBÂNCIA DE DPPH

Vol. Sol. De DPPH (mL)	Conc. DPPH (μM)	Absorbância
1,7	0,1	0, 142
3,3	0,2	0, 268
5,0	0,3	0, 402
6,7	0,4	0, 523
8,3	0,5	0, 624
10	0,6	0, 749

TABELA 8 - ABSORBÂNCIA DE DPPH EM RELAÇÃO AO TEMPO DE ANÁLISE

Tempo (min)	Abs (Amostra 1)	Abs (Amostra 2)	Abs (Amostra 3)
1	0, 953	0, 764	0, 897
2	0, 948	0, 674	0, 816
3	0, 861	0, 650	0, 685
4	0, 696	0, 592	0, 640
5	0, 644	0, 560	0, 598
6	0, 626	0, 549	0, 579
7	0, 606	0, 538	0, 577
8	0, 603	0, 534	0, 574
9	0, 598	0, 531	0, 571
10	0, 594	0, 529	0, 562
11	0, 591	0, 527	0, 566
12	0, 589	0, 526	
13	0, 587	0, 525	
14	0, 586	0, 524	
15	0, 585	0, 523	
16	0, 584		
17	0, 583		
18	0, 582		
19	0, 581		
20	0, 580		

A atividade antioxidante total apresenta valores satisfatórios para as amostras de tanino de acácia negra, já que a cada 0, 00002 g de tanino de acácia consumiram-se 1,00 g de radical livre.

Quanto maior o IC₅₀, maior será a quantidade necessária de substância para exercer a atividade antioxidante, dessa forma, um baixo IC₅₀ significa que o tanino tem um grande poder antioxidante.

Na (FIGURA 49) mostra-se o esquema da determinação da atividade antioxidante total do tanino da acácia negra.

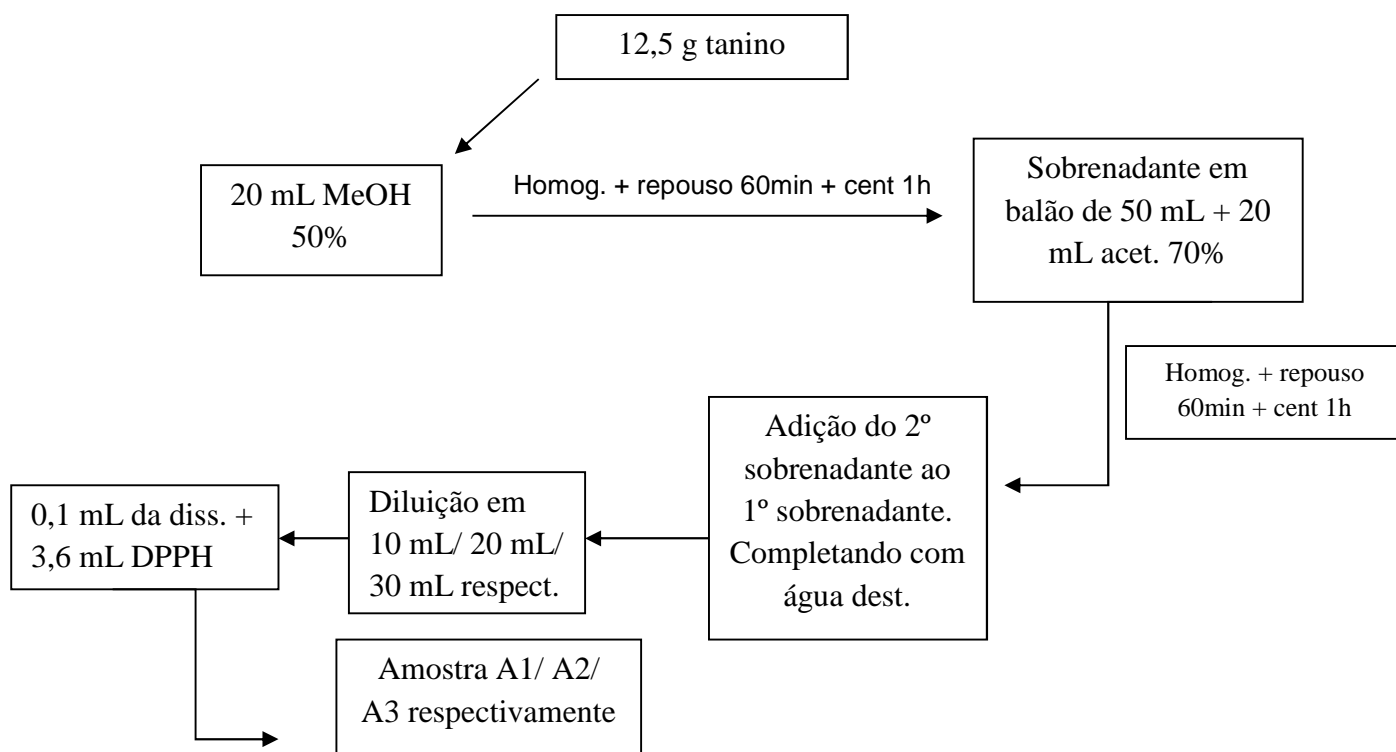


FIGURA 49 - ESQUEMA DA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL DO TANINO DA ÂCACIA NEGRA

O valor obtido de IC_{50} para a amostra A1 foi de 3,27 $\mu\text{g/mL}$, quer dizer que são necessários 3,27 $\mu\text{g/mL}$ do extrato tânico para reduzir em 50% o radical DPPH•, enquanto que, para a amostra A2 apresentou o maior valor de IC_{50} , de 4,11 $\mu\text{g/mL}$, sendo necessários 4,11 $\mu\text{g/mL}$ do extrato de tanino para que aconteça a redução da metade do radical DPPH• presente e, portanto, uma atividade antioxidante bem menor que na amostra A1. Mas quando comparamos com a amostra A3, notamos o menor valor de IC_{50} será nesta amostra, sendo, 1,48 $\mu\text{g/mL}$ ao compararmos as 3 amostras.

TABELA 9 - ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS AMOSTRAS EM RELAÇÃO AO DPPH

Amostra	IC_{50} $\mu\text{g/ML}$	Poder antiradical-mL/ μg
A1	3,27	0,3
A2	4,11	0,24
A3	1,48	0,67

Quanto maior o poder antiradical, maior a atividade antioxidante da amostra em relação ao radical DPPH•.

Explicando que, o IC_{50} é inversamente proporcional à atividade antioxidante, e o poder antiradical vem a ser diretamente proporcional à atividade antioxidante.

Os valores obtidos para o IC_{50} foram menores na seguinte proporção: amostra A3 > amostra A1 > amostra A2.

4.5. TEOR DE COMPOSTOS TANANTES

Obteve-se 76% de teor de compostos tanantes do tanino da *Ácacia Negra*, sendo assim, é possível perceber que, o tanino da *acácia negra* possui uma alta atividade antioxidante, confirmando os resultados dos métodos utilizados, Rancimat, UV-Vis. Isto se dá pelo fato que, esse composto fenólico obtêm um elevado valor como antioxidante, isso, devido as hidroxilas presentes em sua estrutura molecular, principalmente as do grupo catecol.

4.6. ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA (EPR)

A espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica é uma técnica poderosa para estudar estruturas químicas com em elétrons desemparelhados. Baseia-se no fato de que, um spin de elétron pode adotar duas orientações ao longo da direção definida por um campo magnético aplicado.

Este elétron livre favorece a reação com outras moléculas, o que torna os radicais livres extremamente reativos, inclusive de moléculas orgânicas. Em muitos destes radicais livres, os elétrons estão livres para moverem-se por toda a molécula e com isso interagir com muitos momentos nucleares, apresentando interação hiperfina (BUNCE, 1987).

Com compostos contendo elétrons desemparelhados, como a nos radicais livres orgânicos, espectroscopia de EPR detecta o sinal próprio, como a primeira derivada mostrada na (FIGURA 50), e o valor de g é próximo ao valor de g_e do elétron livre ($g_e = 2,0023$), na faixa de 2,0020 a 2,0025. Valores de g variando em 2,0033 e 2,0040 são típicos de radical livre próximo a heteroátomo em estrutura orgânica. O sinal da (FIGURA 50) deve-se à *orto-*

semiquinona formada na oxidação do grupo catecol da catequina do tanino a *orto*-quinona.

O método de EPR veio a confirmar os resultados obtidos pelo método de Rancimat. Sendo assim, verificou-se com o tempo de duas semanas, se as amostras com as mesmas concentrações das tabelas 2, 3, 4 e 5, melhoraria o sinal de EPR ou não. Sendo que, quanto maior o sinal de EPR, maior a quantidade de radical livre naquela amostra, diminuindo assim o tempo da estabilidade oxidativa da mesma. Logo, para obter-se um bom resultado, o sinal (radical livre) teria que ser baixo ao decorrer de duas semanas. Já que se espera a neutralização de radicais livres, realizada pelo composto fenólico (tanino), onde quelará o oxigênio triplete e singlete do biodiesel ou decompondo peróxidos. Aumentando assim a estabilidade oxidativa do biodiesel.

A comparação em relação aos reagentes BDEA, DEA, MEA e HPA foi: qual das aminas oferece o menor sinal nas composições de 800, 700, 600, 500 e 400 ppm, de acordo com as tabelas 2 a 5. Isso indicaria qual seria o melhor antioxidante, fazendo com que, assim, o sinal da amostra diminuísse, logo, menos oxidação a amostra iria sofrer, aumentando o tempo de armazenamento do biodiesel aditivado, ou seja, maior estabilidade oxidativa.

Antes de analisar os espectros das soluções das misturas de acordo com a tabela 2, 3, 4 e 5, é preciso identificar os espectros de cada um separadamente. Os espectros dos antioxidantes são apresentados nas figuras abaixo:

Como já foi discutido no item 2.7, a exemplos dos elétrons, os núcleos também possuem um número quântico de spin (I), que corresponde à soma algébrica spins nucleares de cada partícula (prótons e nêutrons). Quando o número de prótons (Z) for par e o número de massa (A) também for par, o valor de I será igual a zero, pois tanto os prótons quanto os nêutrons estarão emparelhados. É o caso do ^{14}C e ^{16}O . Logo, pela equação (5), o número de linha para o tanino será igual a 1, ilustrada na (FIGURA 51) .

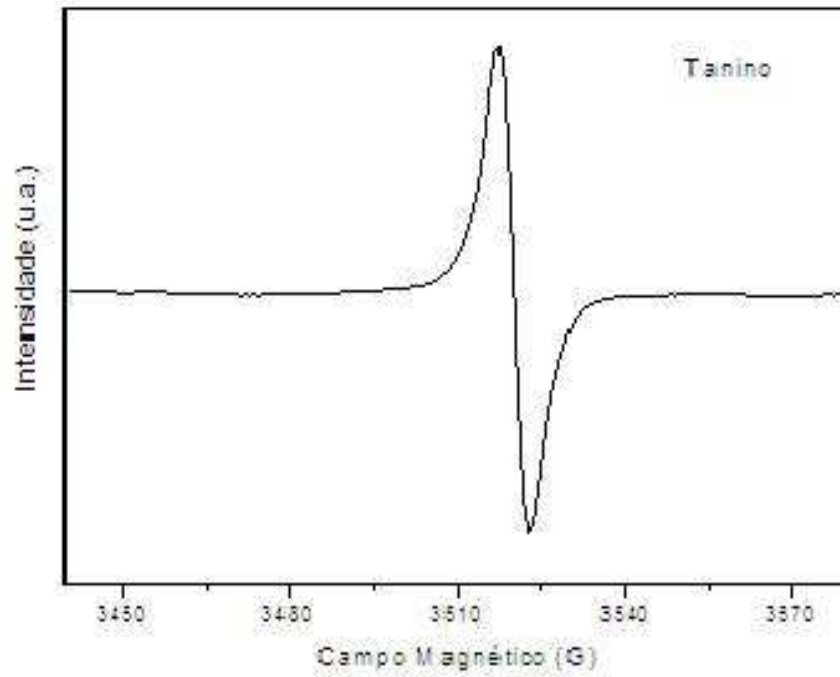


FIGURA 50 - ESPECTRO EM EPR DE TANINO DA ACÁCIA NEGRA (SÓLIDO)

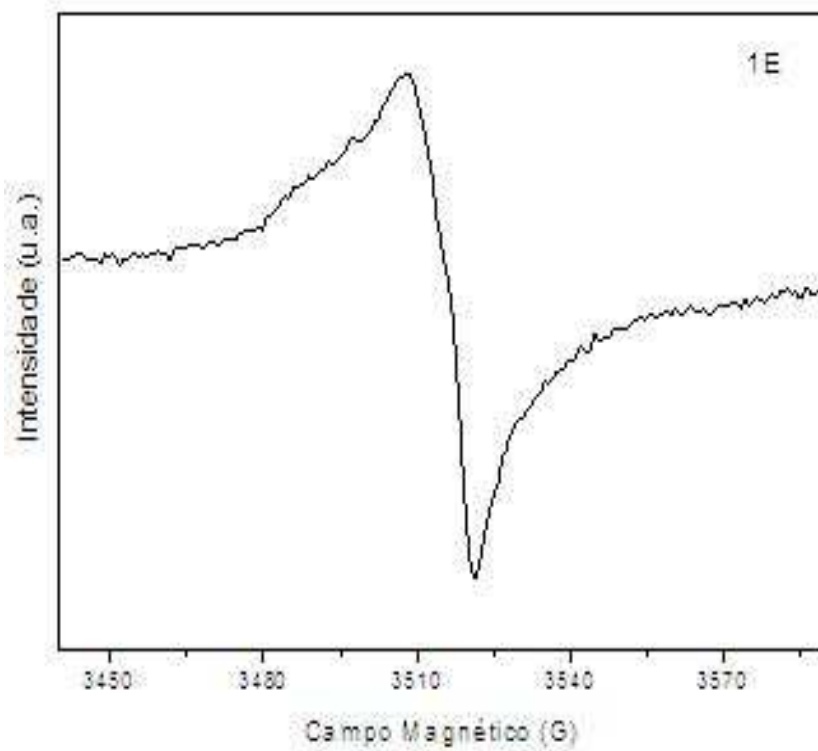


FIGURA 51 - ESPECTRO EM EPR DA 1E (BIODIESEL)

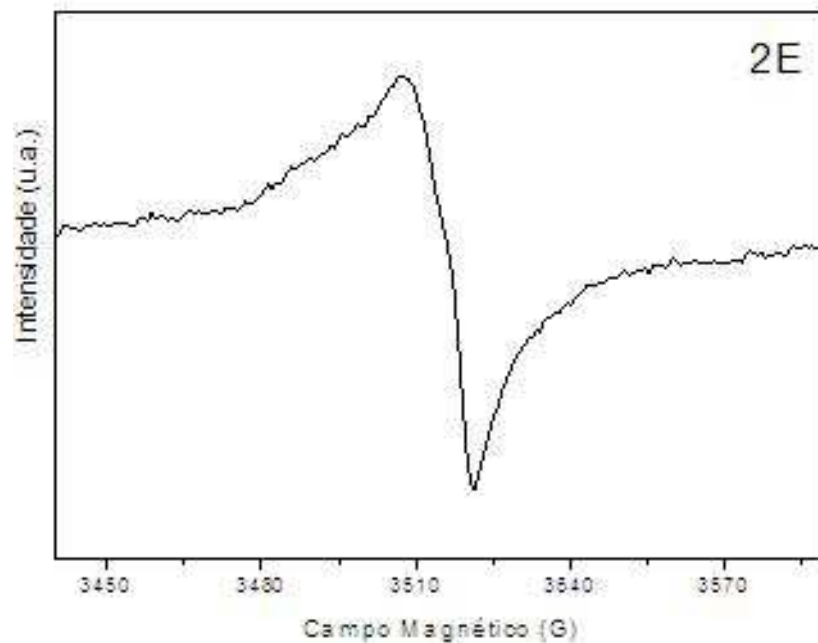


FIGURA 52 - ESPECTRO EM EPR DA 2E (TANINO + BIODIESEL)

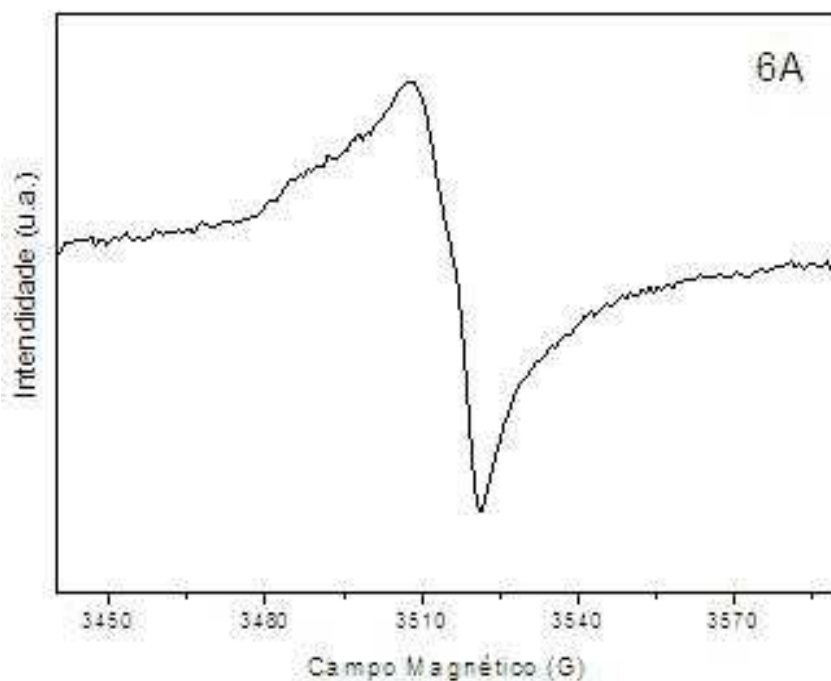


FIGURA 53 - ESPECTRO EM EPR DA 6A (BDEA + BIODIESEL)

O número de linhas de um espectro pode indicar de qual átomo o elétron desemparelhado está mais próximo. No caso das amins, MEA, DEA, os espectros apresentam a mesma forma (FIGURA 55, 56 e 57), com 3 linhas.

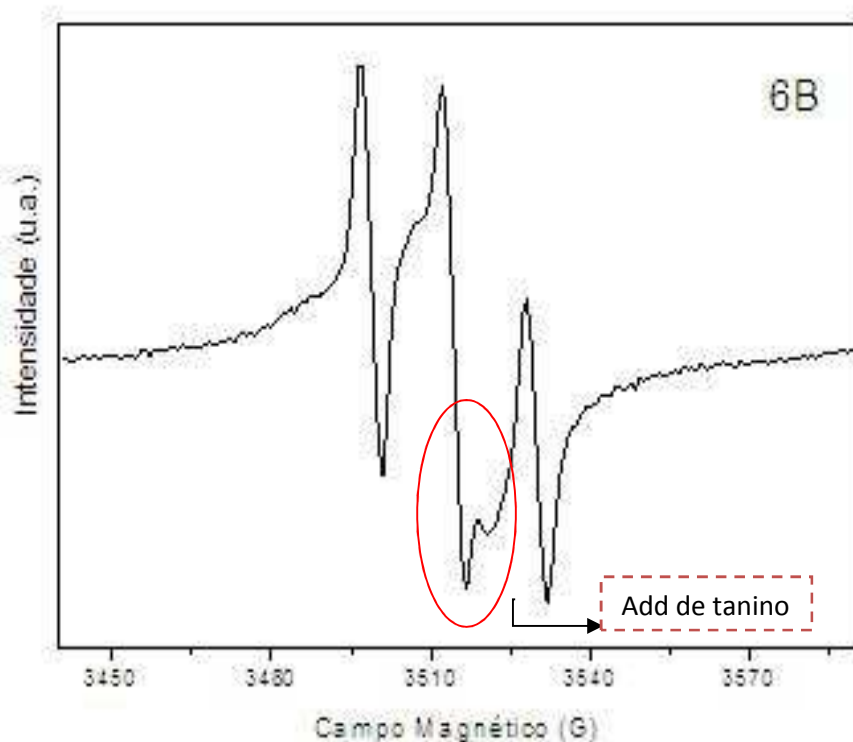


FIGURA 54 - ESPECTRO EM EPR DA 6B (MEA + BIODIESEL)

Esse espectro de 3 linhas é resultante da interação de um elétron desemparelhado com o spin nuclear do ^{14}N ($I=1$). Pode-se dizer que, ele está interagindo com o núcleo do nitrogênio, pois de acordo com a equação (5), para um número de linhas igual a 3, de mesma intensidade, o número de spin nuclear mais próximo deve ser igual a 1.

A reação de um éster com uma amina não é tão lenta, quanto uma reação de um éster com água e um álcool, por uma amina ser um nucleófilo melhor.

Sabe-se que o nitrogênio possui hibridização sp^3 e o par de elétrons livres reside em um orbital dos orbitais sp^3 vazio. Então o par de elétrons livres no átomo de N faz com que as aminas reajam como base, compartilhando seu par de elétrons livres com um próton, que atua reagindo como eletrófilo, compartilhando seu par de elétrons com outro átomo que não seja o de hidrogênio.

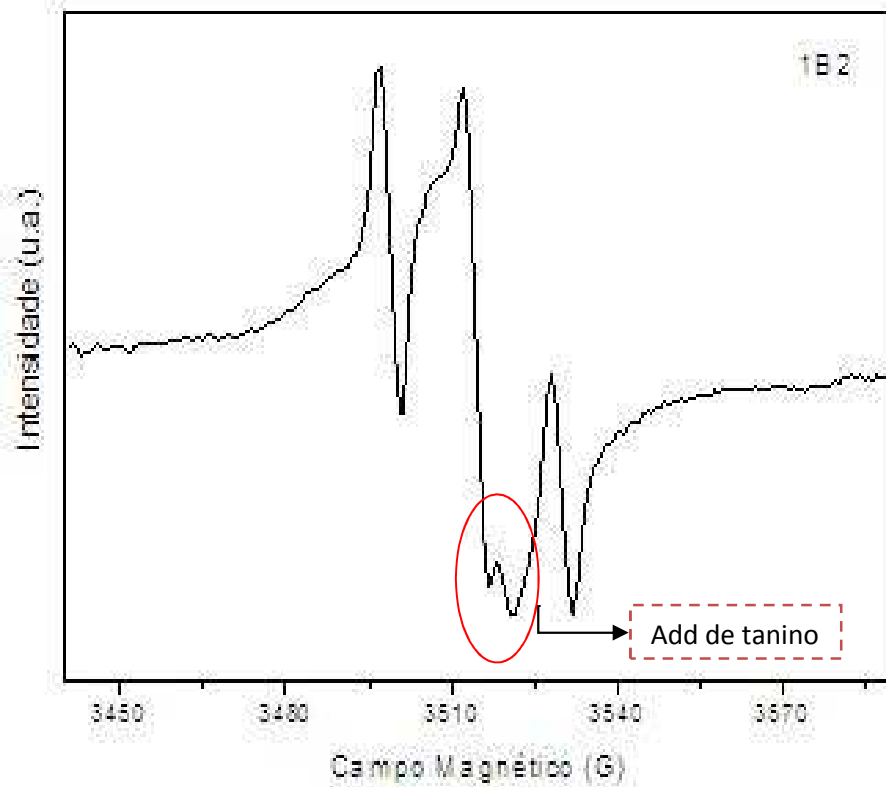


FIGURA 55 - ESPECTRO EM EPR DA 1B (MEA + TANINO + BODIESEL)

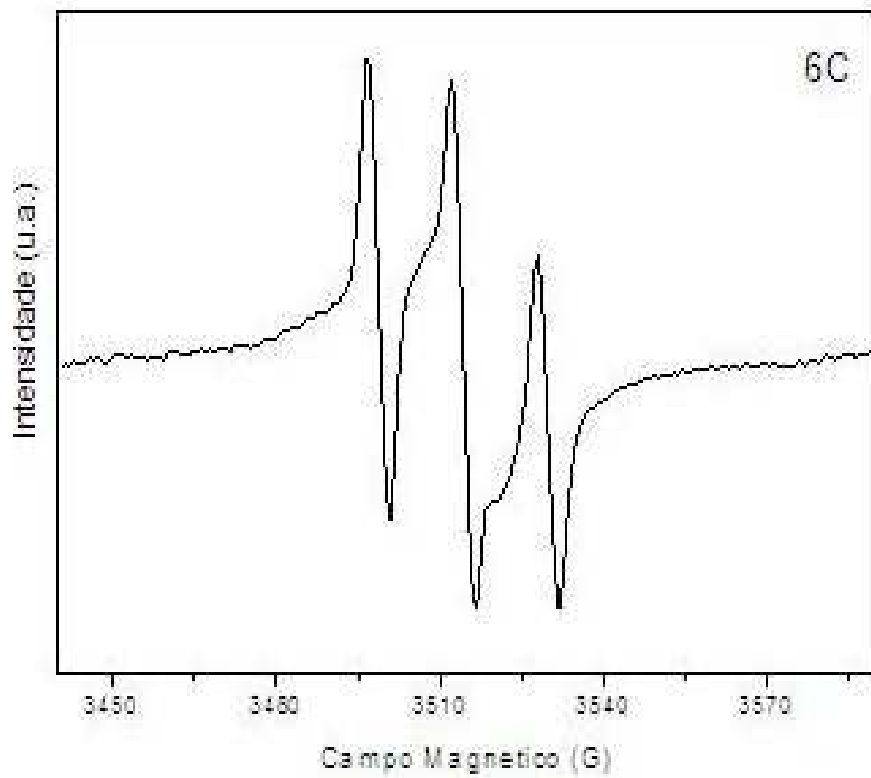


FIGURA 56 - ESPECTRO EM EPR DA 6C (DEA + BODIESEL)

O HPA (FIGURA 57) não mostra suas linhas distintas, devido ao seu impedimento estérico, por ser uma amina terciária.

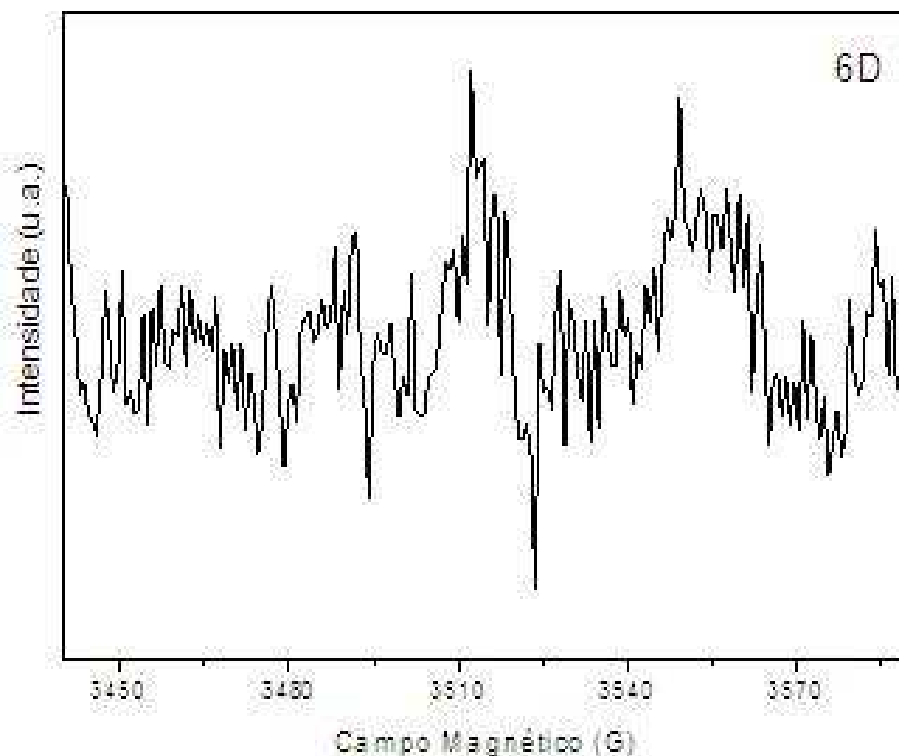


FIGURA 57 - ESPECTRO EM EPR DA 6D (HPA + BIODIESEL)

Os espectros feitos no mesmo dia do preparo das amostras, apresentaram sinais, exceto do HPA por ter o impedimento estérico, mas tal impedimento não significa que o HPA não possa ser usado como aditivo, apenas que o seu sinal não aparece no aparelho de EPR. Os sinais das demais amostras foram fracos, já que se utilizaram parâmetros relativamente baixos, para poderem ser vistos os sinais, sendo que, este ajuste tornou-se bastante eficaz, já que, isso demonstra que as amostras apresentam estabilidade oxidativa alta.

Os espectros depois de duas semanas apresentam-se nas (FIGURAS 58 – 61):

Pode-se notar que os sinais de todas as amostras diminuíram, sendo praticamente despercebido no EPR, esse fato aponta ao aumento das interações moleculares, fazendo com que o tempo da estabilidade aumente, confirmando assim os resultados do Racimat.

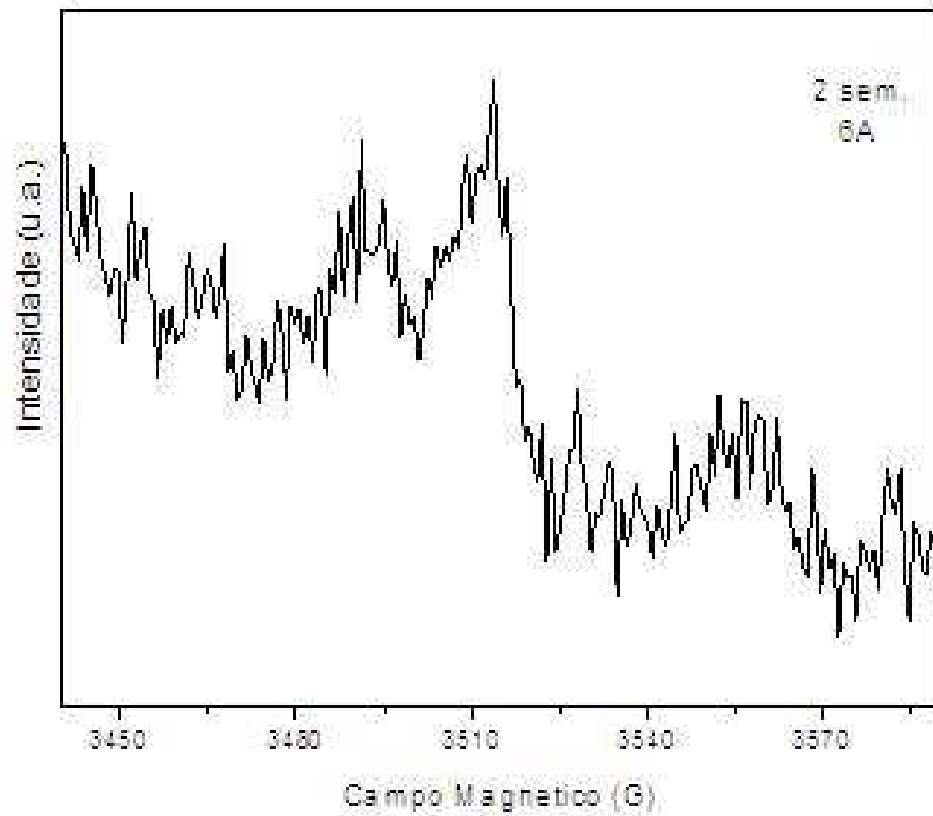


FIGURA 58 - ESPECTRO EM EPR DA 6A (BDEA + BIODIESEL) DEPOIS DE 2 SEMANAS

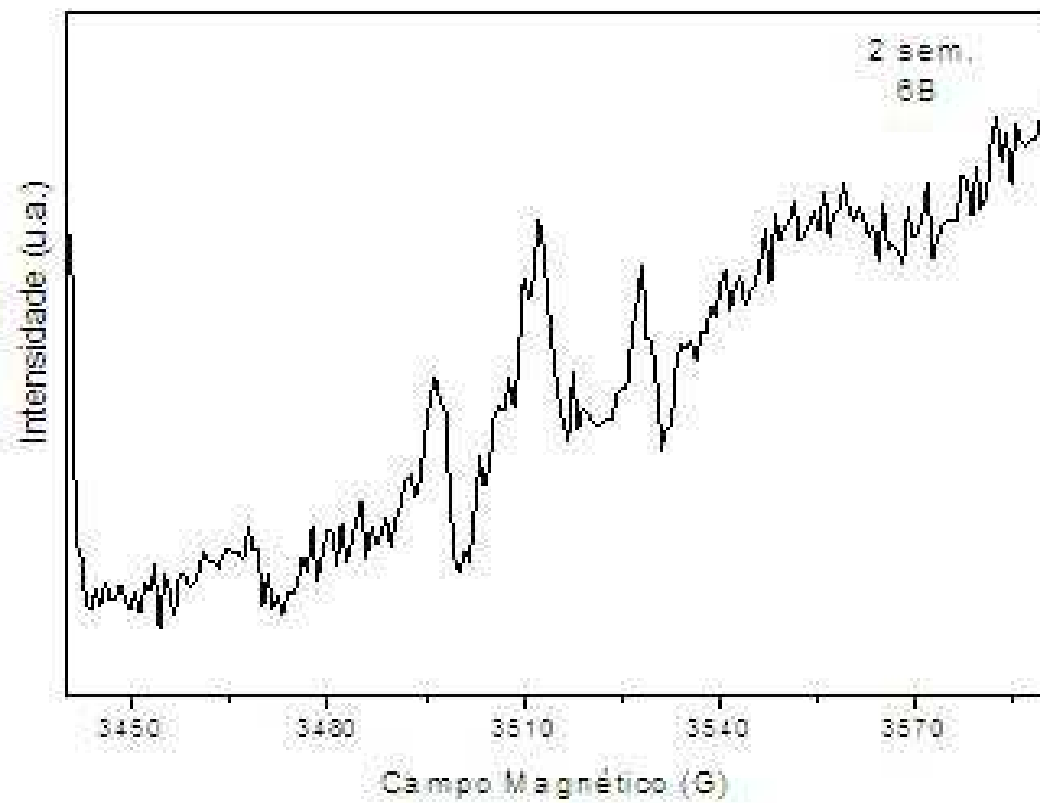


FIGURA 58 - ESPECTRO EM EPR DA 6B (MEA + BIODIESEL) DEPOIS DE 2 SEMANAS

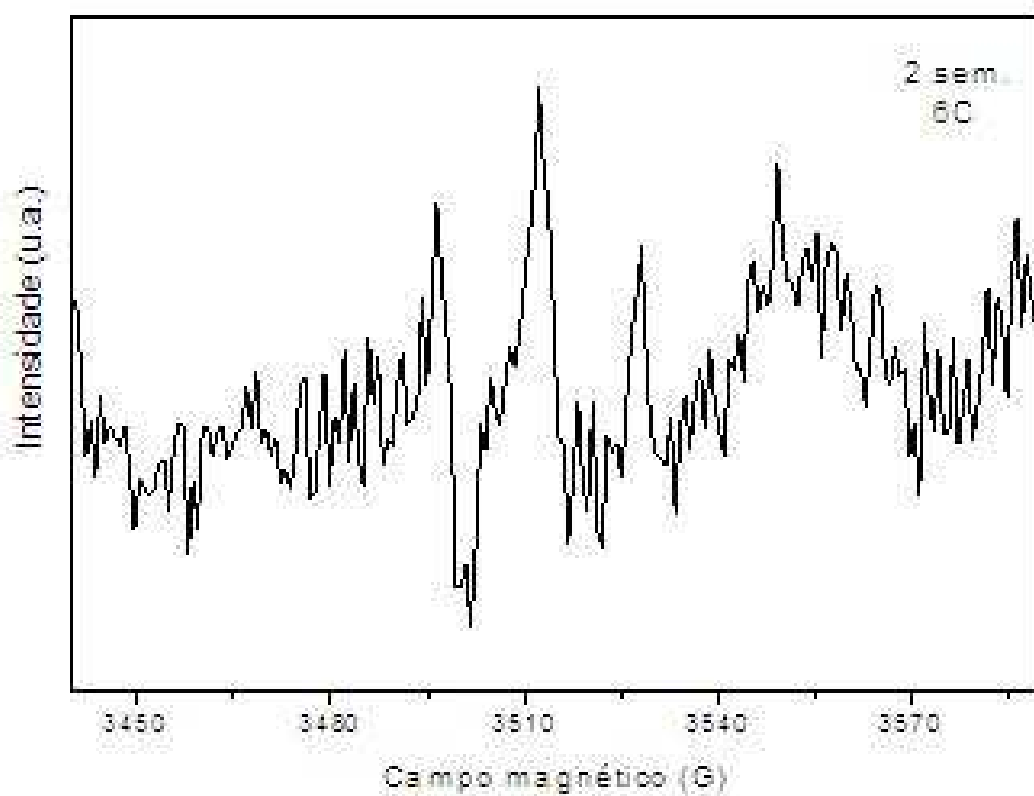


FIGURA 59 - ESPECTRO EM EPR DA 6B (DEA + BODIESEL) DEPOIS DE 2 SEMANAS

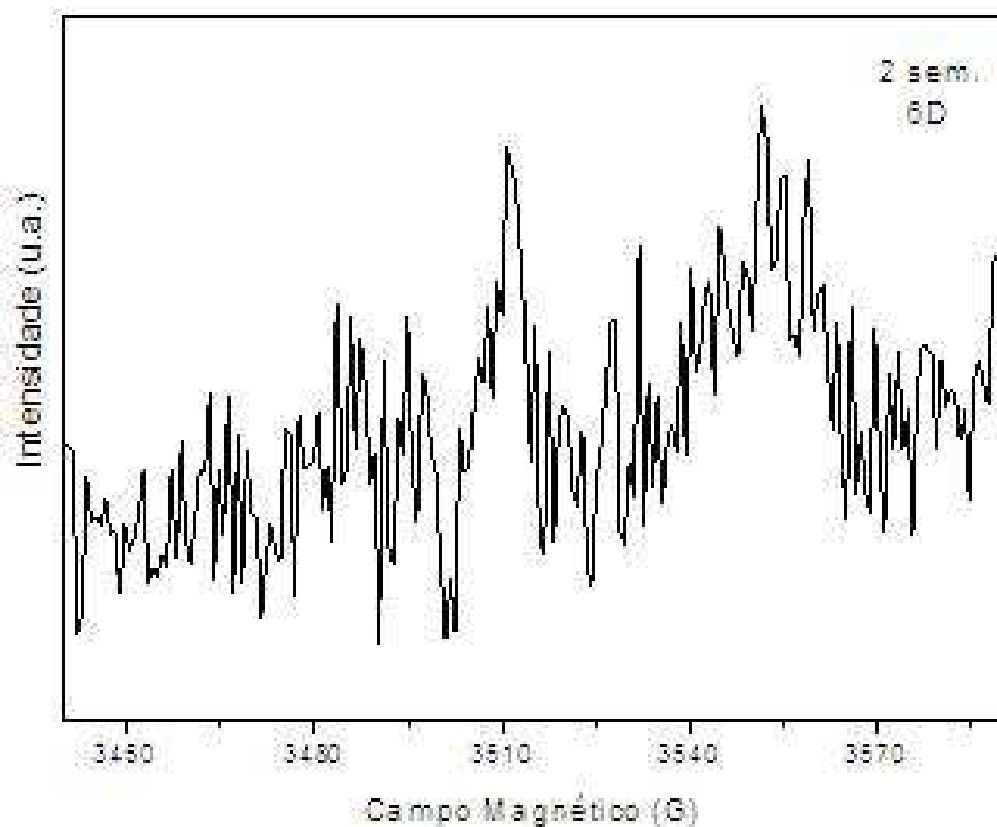


FIGURA 60 - ESPECTRO EM EPR DA 6D (HPA + BODIESEL) DEPOIS DE 2 SEMANAS

5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS

5.1. CONCLUSÕES

Todos os compostos com biodiesel aditivado testados pelo Rancimat, atingiram as expectativas esperadas, já que, os antioxidantes em todas as composições, ultrapassaram o tempo de estabilidade oxidativa de 9 horas, ou seja, estão dentro das especificações da ANP, atingindo assim o objetivo do trabalho.

A técnica de Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica mostrou-se eficiente ao compararmos com os resultados do Racimat, demonstrando assim, a diminuição quase que completa dos sinais (radicais livres) no EPR confirmando a eficácia do antioxidante.

Os resultados dos testes da espectroscopia UltraVioleta-Vis pelo método DPPH, mostraram-se satisfatórios, possuindo um IC₅₀ baixo, de 1,48 µg/mL, ou seja, um grande poder antioxidante, apresentando assim a eficiência do tanino, já que a cada 0,00002 g de tanino, consome-se 1 g de radical livre.

A determinação de polifenóis totais com ácido tânico e ácido gálico, remete-se a quantidade de polifenóis que se encontra no extrato do tanino, sendo eles os responsáveis pelo poder antioxidante da amostra. O teste mostra-se apropriado, obtendo o resultado de 47,5% em 300 ppm do antioxidante tanino adicionado ao biodiesel, tendo assim, um valor satisfatório com ácido gálico. Ao utilizar o ácido tânico, embora tenha tido resultado inferior ao compararmos ao ácido gálico, de apenas 33%, o mesmo ainda atende as expectativas em relação a outros padrões utilizados.

A presença dos compostos aminados mostra-se de fundamental importância, uma vez que, eles são responsáveis por melhorar a solubilidade do tanino no biodiesel, onde quanto mais solúvel for o extrato, melhor resultado ele dará no Rancimat e conseqüentemente no EPR, sendo que, as amins atuam com efeito sinérgico.

Através de todas as análises realizadas tanto no Racimat quanto em EPR, ambas mostraram que, a melhor composição da amostra a qual detém o tempo de 9 hrs em estabilidade oxidativa é a composição de tanino/BDEA/biodiesel em 300 e 100 ppm respectivamente em 50 g de biodiesel.

Realizando uma comparação entre os antioxidantes sintéticos como o BHA e BHT em 500 ppm, respectivamente, e o antioxidante natural, tanino, verificamos que mesmo na menor concentração de tanino/BDEA/biodiesel totalizando 400 ppm, o mesmo obtêm uma estabilidade oxidativa maior. Exemplificando: para o tanino em uma concentração de 400 ppm, temos uma estabilidade oxidativa de 9 hs, para o BHA aproximadamente 6 hrs e BHT de 7 hrs, ou seja, é mais viável a utilização do antioxidante natural, tanino, já que mesmo em menores concentrações seus resultados são mais eficazes que antioxidantes sintéticos, sendo estes utilizados em maiores concentrações.

5.2 SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS

- Purificar o extrato de tanino;
- Realizar estudos cromatográficos para completar os resultados do teste de Rancimat;
- Estudar a cinética de degradação das formulações (biodiesel/antioxidante);
- Avaliar a influência deste antioxidante em outros parâmetros de qualidade do biodiesel.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. _____. Resolução da ANP N° 42/2004. Brasília: Diário Oficial da União, 2004.
2. _____. Regulamento Técnico N° 04/2004. Brasília: Diário Oficial da União, 2004.
3. ACÁCIA NEGRA. Disponível em: <<http://www.pt.wikipedia.org>> Acesso em: 07/05/2014
4. ALBURQUERQUE, G. A. **Obtenção e Caracterização Físico-Química do Biodiesel de Canola (Brassica Napus)**. Dissertação (Mestrado em Química) - Programa de Pós – Graduação em Química. Centro de Ciências Exatas da Natureza, Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2006.
5. ANASTOPOULOS, G., ZANNIKOU, Y, STOURNAS, S., KALLIGEROS, S. - **Transesterification of Vegetable Oils with Ethanol and Characterization of the Key Fuel Properties of Ethyl Esters, Energies**, v.2, p.362-376– 2009.
6. ANGELO, P. M.; JORGE, N. **Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão**. Revista Instituto Adolfo Lutz, v.66, n.1, p.1-9, 2007.
7. ANP - **Agência Nacional de Petróleo, Gás natural e Biocombustíveis**. Notícia -Diesel com 2% de biodiesel chega a todo país a partir de 1º de janeiro, Brasília, 31/12/2007. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br>>. Acesso em: 08/01/2014.
8. ANP - **Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis - Legislação do Biodiesel**, Resolução nº 7 de 19.03.2008 (DOU 20.03.2008). Disponível em: <http://www.anp.gov.br/legislação>, Acesso em: 13/01/2014.

9. ANP - **Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Boletim Mensal do Biodiesel.** Ref.: outubro/ 2011. RJ, 9p. 2011.
10. APPEL, H. M.; GOVERNOR, H. L.; D'ASCENZO, M.; SISKI, E.; SCHULTZ, J. C. **Limitations of folin assays of foliar phenolics in ecological studies.** *Journal of Chemical Ecology*, v. 27, p. 761-778, 2001.
11. ARIGA, T.; HAMANO, M. **Radical scavenging action and its modo in procyanidins B-1 and B-3 from azuki beans to peroxy radicals.** *Agric. Biol. Chem*, 54(10), 2499-2504, 1990.
12. ATKINS, P. W. **Físico – Química.** 6. ed. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 914 p, 1999.
13. BARRETO, C. R. **Óleo de dendê substitui petróleo como combustível e matéria-prima.** *Petro & Química*, ano 5, n.50, 1982.
14. BIANCO, M. A.; SAVOLAINEN, H.; *Sci. Total Environ.*, 203, 79. 1997.
15. BIODIESELBR - BIODIESELBR.COM. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/biodiesel/biodiesel-brasil.htm>>. Acesso em: 13/01/2014.
16. BIODIESELBR - Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/biodiesel/mundo/biodiesel-no-mundo.htm>>. Acesso em: 30/01/2014.
17. BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química do processamento de alimentos.** São Paulo, Livraria Varela, 143 p, 2001.
18. BORA K, MIGUEL OG, ANDRADE CA, OLIVEIRA AOT. **Determinação da concentração de polifenóis e do potencial antioxidante das**

- diferentes frações do extrato de folhas de Dicksonia sellowiana**, (Presl.) Hook, Dicksoniaceae. *Visão Acadêmica*; 6(2):6-15, 2005.
19. BORS, W.; HELLER, W.; MICHEL, C.; SARAN, M. **Flavonoids as antioxidants: determination of radical scavenging efficiencies.** *Methods Enzymol*, 186, 343-355, 1990.
20. BOTIS, S. **EPR Spectroscopy Study of Radiation-Damage-Induced Cathodoluminescence in Quartz, Athabasca Basin.** Dissertação de Mestrado, University of Saskatchewan, Canada, 2005.
21. BUNCE, N.; **Journal of Chemical Education**, 64 (11), 907 - 914; 1987.
22. BUTLER, L.G.; RIEDL, D.J.; LEBRYK, D.G.; BLYTT, H.J.; **Interaction of proteins with sorghum tannin: mechanism, specificity and significance.** *Journal of American Oil Chemistry Society*, v.61, n.5, p.916 – 920, 1984.
23. BUTTNER, G. R.; JURKIEWICZ, B. A. **Chemistry and biochemistry of ascorbic acid. Handbook of Antioxidants Ed. By Cadenas E., Packer L., Marcel Dekker Inc., New York, 91-115, 1996.**
24. BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. **Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity.** *Lebensm-Wiss.u.-Technol.*, v.28, p. 25-30, 1995.
25. BRUKER- Disponível em:
<http://www.brukerbiospin.com/brukerepr/continuouswavepractice.html>.
Acesso em: 21/10/2014
26. CANNAS, A. **Tannins: fascinating but sometimes dangerous molecules.** Itaka, 1999.

27. CARBONOBASIL. Notícias. Disponível em: <<http://www.carbonobrasil.com>>. Acesso em: 05 jan de 2014.
28. CASSEL, E.; VARGAS, R.M.F.; **Aplicaciones Industriales de los taninos vegetales: desarrollo y análisis de productos**, EDIPUC, Porto Alegre, 2008.
29. COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 5. ed. Lisboa: Calouste Gulbenkian, v. I. 1994.
30. COSTA NETO, P. R.; ROSSI, L. F. S.; RAMOS, L. P.; ZAGONEL, G. F.; *Quim. Nova*, 23, 531, 2000.
31. CUNHA, A. M. et al. **Efeito de diferentes substratos sobre o desenvolvimento de mudas de Acacia sp.** *Rev. Árvore* [online], vol.30, n.2, pp. 207-214, 2006.
32. CHANDRASEKAR, D, MADHUSUDHANA, K, RAMAKRISHNA, S, DIWAN, PV. **Determination of DPPH free radical scavenging activity by reversed-phase HPLC: A sensitive screening method for polyherbal formulations.** *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 40, 460-464. 2006.
33. CHUNG, K.; WEI, C.; JOHNSON, M. G.; **Trends Food Sci. Technol**, 9, 168, 1998.
34. DAMASCENO, S. S. **Avaliação da Estabilidade Antioxidante dos Ácidos Caféico e Ferulíco no Controle da Estabilidade Oxidativa do Biodiesel de Soja.** Dissertação apresentada para obtenção do título de mestre em química pelo programa de pós-graduação da UFPB, Paraíba, 2011.
35. 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.
36. DANTAS, M. B.; CONCEIÇÃO, M. M.; SANTOS, I. M. G.; SOUZA, A. G.; **Avaliação da estabilidade térmica e reologia do biodiesel etílico e metílico obtido através da transesterificação do óleo de milho**. In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE BIODIESEL, 1., Brasília, Livro de Resumos. Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel, v. 1, p. 163-168. 2006.
37. DANTAS, M. B.; CONCEIÇÃO, M. M.; SOUZA, A. G.; SANTOS, I. M. G.; SILVA, F. C.; **Obtenção de Biodiesel através da Transesterificação do Óleo de Milho: Conversão em Ésteres Etílicos e Caracterização Físico - Química**. In: I Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia do Biodiesel, 2006, Brasília. I Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia do Biodiesel, v. 1, p. 236-240, 2006.
38. DANTAS, M. B.; CONCEIÇÃO, M. M.; FERNANDES JR., V. J.; SANTOS, N. A.; ROSENHAIM, R.; MARQUES, A. L. B.; SANTOS, I. M. G.; SOUZA, A. G.; **Thermal and kinetic study of corn biodiesel obtained by the methanol and ethanol routes**. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, vol.87 (3), p. 835–839, 2007.
39. DANTAS, M. B.; ALMEIDA, A.A.F.; CONCEIÇÃO, M. M.; FERNANDES JR., V. J.; SANTOS, I. M. G.; SILVA, F.C.; SOLEDADE, L.E.B.; SOUZA, A. G.; **Characterization and kinetic compensation effect of corn biodiesel**. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, vol. 87 (3), p. 847–851, 2007.
40. deMAN, J.M.; deMAN, L. **Automated AOM test for fat stability**. *J. American Oil Chemists' Society*, v.61, n.3, p.534-536, 1984.

41. deMAN, J.M.; TIE, F.; deMAN, L. **Formation of short chain volatile organic acids in the automated AOM method.** Journal of the American Oil Chemists' Society, v.64, n.7, p.993-996, 1987.
42. DESHPANDE, S.S.; CHERYAN, M.; SALUNKHE, D.K. **Tannin analysis of food products. CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition,** v.24, p.401 – 449, 1986.
43. DUNN, R. O. **Antioxidants for improving storage stability of biodiesel. Biofuel, Bioproducts and Biorefining,** 2 (4), 304-318, 2008.
44. DUNN, R. O. **Effect of Oxidation Under Accelerated Conditions on Fuel Properties of Methyl Soyate (biodiesel).** Journal of American Oil Chemists' Society, 79 (9), 915-920, 2002.
45. EBAH - Disponível em: <<http://www.ebah.com.br>>. Acesso em: 03/04/2014
46. Educação uol – Disponível em: <<http://www.educacao.uol.com.br>>. Acesso em: 03/04/2014
47. FARMACOPEIA BRASILEIRA. BRASÍLIA: AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA; . v.1-2, 2010.
48. FERRARI, P. B. B. **Estudo de aditivo para aumento para estabilidade oxidativa do biodiesel.** Dissertação (mestrado). Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Curitiba, 2012.
49. FERRARI, R. A.; SOUZA, W. L.; **Avaliação da Estabilidade oxidativa de Biodiesel de Oleo de Girassol com antioxidantes,** Química Nova, v.32(1), p.106-111, 2009.

50. FERRARI, R.A.; OLIVERIA, V.S. e SCABIO, O.A. **Biodiesel de soja – Taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia.** Química Nova, v. 28, n. 1, p. 19-23, 2005.
51. FOLIN, O.; CIOCALTEAU, V. **On tyrosine and tryptophane determinations in proteins.** The Journal of Biological Chemistry, v. LXXIII, p. 627-650, 1927.
52. FOLIN, O.; DENIS, W. **On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents.** The Journal of Biological Chemistry, v. XII, p. 239-243, 1912.
53. FUCHS, W. **Colha óleo vegetal.** Curitiba: ICD/REPAS, 120 p., 2006.
54. GILES, H. N. Em ref. 15, cap. 9. 2013.
55. GOODMAN, B. A e HALL, P. L. **Electron paramagnetic resonance spectroscopy.** In: WILSON, M.J. (Ed.) Clay Mineralogy: Spectroscopic and Chemical Determinative Methods. London: Chapman & Hall. p. 173-225, 1994.
56. GOZALO, J. C. R; ALOSO, M.G. **Flavonoides em alimentos vegetales: estrutura e actividad antioxidante: Alimencion, Nutriocion e Salud.** V.9, n, 2, p. 32-38, 2002.
57. GUARATINI, T.; MEDEIROS, M. H. G.; COLEPICOLO, P. **Antioxidante na manutenção do equilíbrio redox cutâneo: uso e avaliação de sua eficácia.** Química Nova, v. 30, n. 1, p. 206-213, São Paulo, 2007.
58. GUARIEIRO, L.L.N. **Metodologia analítica para quantificar o teor de biodiesel na mistura biodiesel: diesel utilizando espectrometria na região do infravermelho.** Dissertação (mestrado). Instituto de Química,

- Programa de Pós-Graduação em Química Orgânica, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2006.
59. GUEDES, C. L. B. **Foto-oxigenação sensibilizada de ricinoleato de metila: Estudos visando aproveitamento de óleo de mamona.** Tese de Mestrado, IQ-UFRJ, Rio de Janeiro-RJ, 1989.
60. HADORN, H., ZURCHER, K.; **Zurbestimmung der oxydations stabilitat von olen und fetten, Deutsche Lebensmittel Rundschau,** v. 70, n. 2, p. 57-65, 1974.
61. HAGERMAN, A. AND L. BUTLER **"Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins."** J Agric Food Chem 26 : 809-812, 1978.
62. HAGERMAN, A. AND L. BUTLER. **"The specificity of proanthocyanidin-protein interactions."** J Biol Chem 256 (9): 4494-7. 1981.
63. HALLIWELL, B.; Adv. **Pharmacol**, 38, 3, 1997.
64. HALLIWELL, B. **How to characterize a biological antioxidant.** *Free Rad. Res. Commun.* 9, 1-32, 1990.
65. HASLAM, E. **Plant polyphenols-vegetable tannins revisited.** Cambridge: Cambridge University Press, 1989.
66. HARVEY, M. I. **Analysis of hydrolysable tannins.** Animal Feed Sci. Technol., v.91, p.3-20, 2001.
67. HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. **The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.53, p.1841-1856, 2005.

68. IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da extração vegetal e da silvicultura 2008. Brasil, v. 23, 2009.
69. JORGE, F.C.; BRITO, P.; PEPINO, L.; PORTUGAL, A.; GIL, H.; COSTA, R.P.; SILVA, L. , 9, 225, 2001.
70. JOVANOVIĆ, S.V.; STEENKEN, S.; TOSIĆ, M.; MARJANOVIĆ, B.; SIMIĆ, G. S. **Flavonoids as antioxidants**. *J. Am. Chem. Soc.*, 116, 4846-4851, 1994.
71. JOVANOVIĆ, S. V.; STEINKEN, S.; SIMIĆ, M. G; HARA, Y. **Antioxidant properties of flavonoids: reduction potentials and electron transfer reactions of flavonoid radicals**. *Flavonoids in Health and Disease*, Ed. By Rice-Evans C, Packer L., Marcel Dekker, New York, 137-161, 1998.
72. KAPLAN, S.; FERRAZ, F.F. e FERRAZ, M. **Biocombustíveis Petrobrás: uma evolução inspirada na natureza**. *Ciência Hoje*, v. 41, p. 2-7, 2007.
73. KIM, KW, THOMAS, RL. **Antioxidative activity of chitosans with varying molecular weight**. *Food Chemistry*. 2006.
74. KITAGAWA, S.; FUJISAWA, H., SAKURAI, H. **Scavenging effects of dihydric and polyhydric phenols on superoxide anion radicals, studied by electron spin resonance spectrometry**. *Chem. Pharm. Bull*, 40, 304-307 1992.
75. KUČEK, K. T. **Otimização da Transesterificação Etilica do Óleo de Soja em Meio Alcalino**. 2004. 123 f. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

76. KUMARATHASAN, R.; RAJKUMAR, A. B. e HUNTER, N. R. **Autoxidation and yellowing of methyl linolenate. Progress Lipid Research**, v.31, n.2, p.109-126, 1992.
77. KNOTHE, G.; DUNN, R. O.; **Oleochemical Manufacture and Applications**, Academic Press: Sheffield, 2001.
78. LEKHA, P. K.; LONSANE, B. K. **Production and application of Tannic Acyl Hydrolase: State of the art. Adv. App. Microbiol.** v. 44, 1997.
79. LOH, S. K.; CHEW S. M.; CHOO Y. M. **Oxidative stability and storage behaviour of fatty acid methyl esters derived from used palm oil. Journal of the American Oil Chemists' Society.** v. 83, n. 11, p. 947-952, 2006.
80. LU, Y.; FOO, L. Y. **Identification and quantification of mayor polyphenols in apple pomace. Food Chem.**, v. 59, p. 187-194, 1997.
81. LU, Y.; FOO, L. Y. **The polyphenol constituents of grape pomace. Food Chem.**, v. 65, p. 1-8, 1999.
82. LU, Y.; FOO, L. Y. **Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. Food Chem.**, v. 68, p. 81-85, 2000.
83. LUIS, P. R; KUCEK, K. T; DOMINGOS, A. K; WILHELM, H. M. **BIODIESEL: Um projeto de sustentabilidade econômica e sócio-ambiental para o Brasil**, 2012.
84. MA, F., HANNA & M. A., - **Biodiesel production: a review, Bioresource Technology**, v.70, Issue 1, p. 1-15, 1999.
85. MANGAN, J.L. **Nutritional effects of tannins in animal feeds. Nutrition Research.** Reviews.v.1, p.209 – 231, 1988.

86. MARTINEZ, T. D. **Seleção genética de Acácia mearnsii De Wild (acácia-negra) visando o aumento da qualidade e produtividade de madeira e tanino no Rio Grande do Sul.** UFPR, Dissertação de mestrado, 2006.
87. MEHER, L.C., SAGAR, D. V., NAIK, S.N. - **Technical aspects of biodiesel production by transesterification - a review; Renewable and Sustainable Energy Reviews** – 10, 248–268, 2006.
88. MELLO, J. C.P.; SANTOS, S. C. Taninos. In: SIMÕES, C.M.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 3 ed. Porto Alegre: Ed.UFRGS/Ed.UFSC, cap. 24, p.517-543, 2001.
89. MILLER, N. J.; RICE-EVANS, C.; DAVIES, M. J.; GOPINATHAN, V.; MILNER, A. **A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates.** Clin. Sci., v. 84, p. 407-412, 1993.
90. MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA E DO COMÉRCIO, **Produção de Combustíveis Líquidos a Partir de Óleos Vegetais.** Brasília: Secretaria de Tecnologia Industrial, 364p. 1985.
91. MINISTÉRIO DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA, **Programa brasileiro de biocombustíveis: rede brasileira de biodiesel - PROBIODIESEL.** Brasília, 2002.
92. MORETTO, E. FETT, R. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais.** Rio de Janeiro: Varela, 1989.
93. NAG, A., BHATTACHARYA, S.; DE, K. B. **New utilization of vegetable oils.** J. Am. Oil Chem. Soc., v.72, n.12, p.1591-1593, 1995.
94. NAKAMURA, Y.; TSUJI, S.; TONOGAI, Y.; **Method for analysis of tannic acid and its metabolites in biological samples: Application to**

- tannic acid metabolism in the rat.** J. Agric. Food Chem., v.51, p.331-339, 2003.
95. NAKATANI, N. SHAHIDI, F. **Antioxidants from spices and herbs. Natural antioxidants: chemistry, health effects, and applications.** Newfoundland: AOCS Press, chap. 4, p. 64-75, 1996.
96. NACZK, M.; SHAHIDI, F. **Extractions and analysis of phenolics in food.** J. Chromatogr. A, v.1054, n.1-2, p.95- 111, 2004.
97. ORTON J. W.: **“Electron Paramagnetic Resonance”.** London, 1968.
98. OTERA, J.- Transesterification - Chemical Reviews; 93(4):1449-70, 1993.
99. OZAWA, C. C.; GONÇALVES, L. A. G. **Oxidación lipídica y nuevos métodos analíticos de detección. Aceites e grasas.** v. 2, p. 330-338, 2006.
100. PALOZZA P.; ROSSELLA S., PICCI N.; BUZZONI L.; CILIBERTI N.; NATANGELO A.; MANFREDINI S.; VERTUANI S., **Design, synthesis, and antioxidant potency of novel α - tocopherol analogues in isolated membranes and intact cells.** Free Radical Biology and Medicine, v. 44, p.1452-1464, 2008.
101. PANNALA, A. S. et al. **Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: fast reaction kinetics.** Biochemical and Biophysical Research Communications. v. 282, p.1161-1168, 2001.
102. PARENTE, E. J. S. **Biodiesel: uma aventura tecnológica num país engraçado.** Fortaleza: Tec -bio, 2003.
103. PIZZI, A. Wood Adhesives: **Chemistry and Technology.** New York: Marcel Nova Iorque, 1983.

104. PIZZI, A.; **Wood Adhesives: Chemistry and technology**, Marcel Dekker, Nova Iorque, 1983.
105. PIYAPORN, K., JEYASHOKE, N.; KANIT, K. **Survey of seed oils for use as diesel fuels**. J. Am. Oil Chem. Soc., v.73, n.4, p.471-474, 1996.
106. POLAVKA, J.; PALIGOVÀ, J.; CVENGROŠ, J.; ŠIMON, P. **Oxidation stability of methyl esters studied by differential thermal analysis and Rancimat**. Journal of the American Oil Chemists' Society. v. 82, n. 7, p. 519-524, 2005.
107. POOLE, C. P., FARACH, H.A. **The Theory of Magnetic Resonance**. John Willey & Sons, Somerset, NJ, 452p, 1972.
108. PRANKL, X.; SCHINDLBAUER, X. **Oxidation stability of fatty acid methyl esters**. In: **EUROPEAN CONFERENCE ON BIOMASS FOR ENERGY AND INDUSTRY**, 10, 1998, Würzburg, Germany. Anais... Würzburg: BLT, p. 1-5, 1998.
109. PRATES, C. P. T.; PIEROBON, C. E.; Costa, R. C. **Formação de Mercado de Biodiesel no Brasil**. Rio de Janeiro: BNDS Setorial, 2007.
110. RAMALHO, V. C.; JORGE, N. **Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos**. Química Nova, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.
111. RAMOS, L. P. Aspectos técnicos sobre o processo de produção de biodiesel. In: **SEMINÁRIO PARANAENSE DE BIODIESEL**, 1., 2003, Londrina. Anais eletrônicos... Disponível em: <<http://www.tecpar.br/cerbio/Seminario-palestras.htm>> Acesso em: 08/01/2014.

112. RAYMUNDO, MS, HORTA, P, FETT. R, **Atividade antioxidante in vitro de extratos de algumas algas verdes (Chlorophyta) do litoral catarinense (Brasil)**, Revista Brasileira de Ciências Farmacológicas. 40. 2004.
113. RAWCHAL, M. F. G.; DEDECEK, R. A.; CURCIO, G. R.; SIMON, A. A. **Produção de madeira, casca e tanino de Acacia mearnsii com 7 anos de idade, em solos derivados de micaxistos e arenito no município de Piratini, RS**. Comunicado Técnico Embrapa, n.54, ISSN 1517-5030, 2001.
114. REVISTA-FI. Disponível em: <[http:// www.revista-fi.com](http://www.revista-fi.com)>. Acesso em 06/04/2014.
115. RESSONÂNCIA MAGNÉTICA – ASPECTOS TEORICOS, 2014.
116. RIBEIRO, S. M. R. et al. **A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico**. Bioscience Journal. v. 21, n. 3, p. 133-149, 2005.
117. RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N. J. **Total antioxidant status in plasma and body fluids**. *Methods Enzymol.*, v. 234, p.279-283, 1994.
118. RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. **Antioxidant properties of phenolic compounds**. *Trends Plant Sci.*, v. 2, n. 4, p. 152-159, 1997.
119. RICE-EVANS, C; MILLER, N. J.; BOLWELL, G. P.; BRAMLEY, P. M.; PRIDHAM, J. B. **The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavonoids**. *Free Rad. Res.*, v. 22, p. 375-383, 1995.

120. RICE-EVANS, C.; NICOLAS, J.; MILLER, J.; PAGANGA, G. **Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids.** *Free Radic. Biol. Med.*, v.20, p.933-956, 1996.
121. RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; PAGANGA, G. **Structure – antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids.** *Free Radical Biology & Medicine*,v.20, n.7, p.933-956, 1996.
122. RINALDI, R; GARCIA, C; MARCINIUK, L. L; ROSSI, A. V. *Química Nova*: **Synthesis of biodiesel: a contextualized experiment proposal for the general chemistry laboratory**, vol.30 n^o.5 São Paulo Sept./Oct. 2007.
123. RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E.S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; JIMÉNEZ, J. P.; CALIXTO, F. D. S. **Método Científica: Determinação da Atividade Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH**, Fortaleza, 2007.
124. SALUNKHE, D.K., CHAVAN, J.K., KADAM, S.S. ***Dietary tannins: consequences and remedies.*** Boca Raton : CRC Press, 200p, 1990.
125. SANTOS, A.F.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; AUER, C.G.; SANTANA, D.L. Q. **O complexo gomose da acácia-negra.** Circular Técnica, Colombo: EMBRAPA – CNPF,44, 8, 2001.
126. SANTOS, N. A. **Estudo Termoanalítico de Biodiesel Derivado Do Óleo De Babaçu,Relatório Técnico-Científico Final PIBIC/CNPq/UFPB**, 2005.
127. SANTOS, S. da. C.; MELLO, J. C. P.de. Taninos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P. de.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (org). **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento.** 5. ed. rev. ampl., Porto Alegre: UFRGS, Florianópolis, UFSC, Cap. 24, p. 615-656, 2003.

128. SCHAHIDI F, JANITHA P. K, WANASUNDRA P. D. **Phenolic antioxidants**. Crit Rev Food Sci Nutr 32: 67-103, 1992.
129. SERRUYA, H. **Óleos Vegetais**. in: Congresso Brasileiro de Química, 31, Recife, 1991. Anais... Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 1991.
130. SHAHIDI; NACZK, **Food phenolics: Sources, Chemistry, Effects, Applications**, Technomic Publishing Company Inc., Lancaster PA., pp: 231- 245, 1995.
131. SIES, H. **Strategies of antioxidant defence**. Review. European Journal of Biochemistry, Berlin, v.215, n.2, p.213-219, 1993.
132. SICHEL, G., CORSARO, C; SCALIA, M.; DI BILIO, A. J.; BONOMO, R. P. **In vitro scavenger activity of some flavonoids and melanins against O₂"**. *Free Rad. Biol. Med*, 11, 1-8, 1991.
133. SILVA, F.A.M.; BORGES, M.F.M.; FERREIRA, M.A. **Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante**. Quimica Nova, v. 22, p.94 - 103, 1999.
134. SILVA, L. L.- **Estudos de óleos residuais oriundos de processo de fritura e qualificação desses para a obtenção de monoésteres (biodiesel)**. Dissertação de Mestrado, 53 pp, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2008.
135. SINGLETON V. L, ROSSI J. A. **Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents**. Am J Enol Viticult 16: 144-158., 1965.
136. SINGLETON, V. L, ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. **Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and**

- Antioxidants by Means of Folin Ciocalteu Reagent.** Methods in Enzymology, V. 299, p. 152 – 178, 1999.
137. SOAREZ, P. A. Z. E.; MENEGHETTI, S. M. P. **70º Aniversário do Biodiesel em 2007: Evolução Histórica e Situação Atual no Brasil.** Química nova, v. 30, p.2068-2071, 2007.
138. SOUSA, et al., **Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais.** Quimica Nova. 30, 351-355. 2007.
139. SOUZA, A. G.; OLIVEIRA SANTOS, J. C.; CONCEIÇÃO, M. M.; DANTAS SILVA, M. C.; PRASSAD, S. **A thermoanalytic and kinetic study of sunflower oil.** Brazilian Journal of Chemical Engineering, v. 21, n. 2, p. 265-273, 2004.
140. 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.
141. SCALBERT, A. **Quantitative methods for the estimation oftannins in plant tissues.** In: HEMINGWAY, R. W.; LAKS, P. E. Plant Polyphenols. New York: Plenum Press, p. 259-280, 1992.
142. SCHMITZ, W.; SAITO, Y. A.; ESTEVÃO, D.; SARIDAKIS, O. H. **Gren tea as a chemoprotector:** Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina, v. 26, n. 2, p. 119-130, jul./dez. 2005.
143. SCHUCHARDT, U.; SERCHELI, R.; VARGAS, R. M., **Transesterification of Vegetable Oils: a Review.** Journal of Brazilian Chemical Society, vol.9, p.199 - 210, 1998.

144. SGARBIERI, Valdemiro C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações, modificações**. Livraria Varela – São Paulo, 1996.
145. SHAHIDI, F.; WANASUNDARA, P. K. J. **Phenolic antioxidants**. Crit. Rev. Food Sci. Nutr, 32, 67-103 1992.
146. SHARMA, Y. C.; SINGH, B.; Upadhyay, S. N. Fuel 2008.
147. SRIVASTAVA, A.; PRASAD, R. - **Triglycerides-based diesel fuels, Renewable and Sustainable Energy Reviews** 4, 2000.
148. STOURNAS, S.; LOIS, E.; SERDARI, A. **Effects of fatty acid derivatives on the ignition quality and cold flow of diesel fuel**. J. Am. Oil Chem. Soc., v.72, n.4, p.436-437, 1995.
149. TANAC. Disponível em: <<http://www.tanac.com.br>>. Acessado em: 14/04/2014
150. U.S. DEPARTMENT OF ENERGY. BIODIESEL RESEARCH PROGRESS 1992-1997. Disponível em: <<http://www.epa.gov/epahome/resource.htm>> Acesso em: 24/11/2013.
151. VAN GERPEN, J., SHANKS, B., PRUSZKO, R., CLEMENTS, D., KNOTHE, G., **Biodiesel Analytical Methods**. NREL, Colorado, USA, 100p., 2004.
152. VICKERY, M. L. E.; VICKERY, B.; **Secondary Plant Metabolism**, The Macmillan Press LTD: London, 1981.
153. VIEIRA, M. C.; LELIS, R. C. C.; SILVA, B. C. S.; OLIVEIRA, G. L. **Tannin extraction from the bark of Pinus oocarpa var. oocarpa with Sodium Carbonate and Sodium Bisulfite**. Revista Floresta e Ambiente, v. 18, n. 1, p. 1-8, 2011.

154. WERTZ, J. E.; BOLTON, J. R.; **Electron spin resonance, elementary theory and practical applications.** Mc Graw-Hill, 1972.
155. WEYER, L. G. **Near-infrared spectroscopy of organic substances.** *Applied Spectroscopy Reviews*, v. 21, n. 1-2, p. 1-43, 1985.
156. WIKIPEDIA – Disponível em: <[http: pt.wikipedia.org](http://pt.wikipedia.org)>. Acesso em: 06/07/2014
157. YOKOZAWA, T. et al. **Study on the inhibitory effect of tannins and flavonoids against the 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical.** *Biochemical Pharmacology*, v.56, n.2, p.213-222, 1998.
158. YURKANIS, B. P. **Química Orgânica**, 4ª edição, vol. 1 e 2, Pearson Pentice Hall, São Paulo, 2006.
159. XUE C-H, FANG Y, LIN H, CHEN L, LI Z-J, DENG D, LU C-X, **Chemical characters and antioxidative properties of sulfated polysaccharides from Laminaria japonica.** *J Appl Phycol* 13: 67-70, 2001.