

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE, UNICENTRO-PR**

**ESTUDO DA APLICAÇÃO DE ANTIOXIDANTE NATURAL PARA  
BIODIESEL E ÓLEO DE SOJA**  
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**NAYARA LAIS BOSCHEN**

**GUARAPUAVA - PR**  
**2016**

**NAYARA LAIS BOSCHEN**

**ESTUDO DA APLICAÇÃO DE ANTIOXIDANTE NATURAL PARA  
BIODIESEL E ÓLEO DE SOJA**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química, área de concentração em Físico-Química, para obtenção do grau de mestre.

Orientador: Prof Dr. Paulo Rogério Pinto Rodrigues  
Co-orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Eliane D'Elia

**GUARAPUAVA**  
2016

*Dedico este trabalho,*

*Aos meus pais.*

## **AGRADECIMENTOS**

*Agradeço primeiramente a Deus por essa conquista.*

*Agradeço em especial ao Professor Dr. Paulo Rogério Pinto Rodrigues por ter me apoiado e me aceitado em seu grupo de pesquisa – GPEL – Grupo de Pesquisa em Eletroquímica. Por todo o conhecimento que me transmitiu, companheirismo e amizade.*

*Agradeço à Marcia Gabriela P. Valenga pela paciência e ajuda com os experimentos.*

*Agradeço ao Guilherme A. Maia pela ajuda com a estatística.*

*Agradeço aos professores que fazem parte do GPEL, Professor Dr. Everson do Prado Banczek, Professor Dr. Maico Taras da Cunha, Professora Dra. Marilei de Oliveira, por terem de alguma forma contribuído para este trabalho.*

*Agradeço à todos os colegas do GPEL pelo companheirismo, compreensão e amizade.*

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>I</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>III</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>IV</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>V</b>
<b>1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>3</b>
1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS .....	3
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>5</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	5
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	5
<b>3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....</b>	<b>6</b>
3.1 ÓLEO DE SOJA.....	6
3.2 BIODIESEL.....	7
3.2.1 <i>Reação de Transesterificação.....</i>	<i>9</i>
3.2.2 <i>Avaliação Da Qualidade Do Biodiesel.....</i>	<i>10</i>
3.3 ANTIOXIDANTES .....	13
3.3.1 <i>Vitamina E.....</i>	<i>15</i>
3.4 TÉCNICAS EMPREGADAS.....	17
<b>4 METODOLOGIA .....</b>	<b>19</b>
4.1 TÉCNICAS UTILIZADAS.....	19
4.2 ANTIOXIDANTES UTILIZADOS .....	21
4.2.1 <i>Antioxidante Extraído De Resíduo Agroindustrial.....</i>	<i>21</i>
4.2.2 <i>Ácido Ascórbico.....</i>	<i>26</i>
4.2.3 <i>Ácido Cítrico .....</i>	<i>27</i>
4.3 PRODUÇÃO DO BIODIESEL E PURIFICAÇÃO .....	27
4.4 PLANEJAMENTOS FATORIAIS .....	29
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>31</b>
<b>PARTE 1.....</b>	<b>32</b>
6.1 AVALIAÇÃO DA RESPOSTA ANTIOXIDANTE DO RESÍDUO EM ÓLEO DE SOJA .....	32
<b>PARTE 2.....</b>	<b>35</b>
6.2 AVALIAÇÃO DA RESPOSTA ANTIOXIDANTE DO RESÍDUO EM BIODIESEL .....	35
6.2.1 <i>Espectroscopia Raman.....</i>	<i>35</i>
6.2.2 <i>Espectroscopia na região do Infravermelho e Raman .....</i>	<i>39</i>
6.2.3 <i>Espectroscopia No Infravermelho.....</i>	<i>40</i>
6.2.4 <i>Composição Elementar.....</i>	<i>43</i>
6.2.5 <i>Parâmetros De Qualidade Do Biodiesel.....</i>	<i>46</i>
6.2.6 <i>Planejamentos Fatoriais.....</i>	<i>47</i>
6.2.7 <i>Oxidação Acelerada - Comparativo De Antioxidantes .....</i>	<i>56</i>
<b>7 CONCLUSÕES .....</b>	<b>59</b>
<b>8 SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS.....</b>	<b>60</b>
<b>9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>61</b>

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO DO BIODIESEL.....	9
FIGURA 2 – ESTRUTURAS QUÍMICAS DAS MOLÉCULAS EM A) BHA, B) BHT, C) PG E D) TBHQ. 12	
FIGURA 3- ESTRUTURA QUÍMICA DA MOLÉCULA DA VITAMINA E.....	15
FIGURA 4– EQUIPAMENTO 873 BIODIESEL RANCIMAT - METROHM® .....	20
FIGURA 5– REPRESENTAÇÃO DO FUNCIONAMENTO DO RANCIMAT® (VIOMAR, 2013).....	20
FIGURA 6 – RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE CEVADA MACERADA.....	22
FIGURA 7 – FLUXOGRAMA DO TRATAMENTO DO RESÍDUO.....	23
FIGURA 8 – FLUXOGRAMA PARA EXTRAÇÃO DO RESÍDUO PARA UTILIZAÇÃO EM ÓLEO DE SOJA. 24	
FIGURA 9 – FLUXOGRAMA PARA EXTRAÇÃO DO RESÍDUO EM MEIO ÁCIDO PARA UTILIZAÇÃO EM BIODIESEL. ....	25
FIGURA 10– FLUXOGRAMA PARA EXTRAÇÃO DO RESÍDUO EM MEIO DE METANOL PARA UTILIZAÇÃO EM BIODIESEL. ....	26
FIGURA 11 – FLUXOGRAMA PARA EXTRAÇÃO DO RESÍDUO EM MEIO DE METÓXIDO DE POTÁSSIO PARA UTILIZAÇÃO EM BIODIESEL. ....	26
FIGURA 12– FLUXOGRAMA PARA PRODUÇÃO DO BIODIESEL VIA REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO.....	28
FIGURA 13 – FLUXOGRAMA PARA PURIFICAÇÃO DO BIODIESEL.....	29
FIGURA 14 – TEMPO DE INDUÇÃO EM FUNÇÃO DA CONDUTIVIDADE DO ÓLEO DE SOJA COM ANTIOXIDANTE NATURAL PARA CONCENTRAÇÃO DE 10 G L <sup>-1</sup> VARIANDO AS CONCENTRAÇÕES DA SOLUÇÃO DE ÁCIDO CLORÍDRICO, MEIO DE EXTRAÇÃO: 0,5 (—); 3,0 (—); 5,0 (—); 7,0 (—) 10,0% v/v (—).....	33
FIGURA 15 – ESPECTROS RAMAN PARA AS AMOSTRAS DE RESÍDUOS DE CEVADA MACERADA: BRUTO (—); EXTRAÍDO COM ÁCIDO CLORÍDRICO (—); EXTRAÍDO COM METÓXIDO DE POTÁSSIO (—); E EXTRAÍDO COM METANOL (—).....	36
FIGURA 16 – ESPECTROS RAMAN PARA OS EXTRATOS OBTIDOS DO RESÍDUO DE CEVADA MACERADA EM MEIOS DE: ÁCIDO CLORÍDRICO (—); METÓXIDO DE POTÁSSIO (—); E METANOL (—).....	37
FIGURA 17– ESPECTROS RAMAN PARA AS AMOSTRAS DE BIODIESEL (—) E BIODIESEL COM ADIÇÃO DE ANTIOXIDANTE EXTRAÍDO DO RESÍDUO (—).....	38
FIGURA 18 – ESPECTROS PARA OS EXTRATOS ÁCIDOS OBTIDOS DO RESÍDUO DE CEVADA MACERADA ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (—) E RAMAN (—). ....	39
FIGURA 19– ESPECTROS DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PARA OS EXTRATOS DE: ÁCIDO CLORÍDRICO (—); METÓXIDO DE POTÁSSIO (—); E METANOL (—). ....	40
FIGURA 20– ESPECTROS DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PARA AS AMOSTRAS DE BIODIESEL SEM ANTIOXIDANTE (—) E COM ANTIOXIDANTE (—). ....	41
FIGURA 21 – ESPECTROS RAMAN PARA AS AMOSTRAS DE RESÍDUOS: BRUTO (—); EXTRAÍDO COM ÁCIDO CLORÍDRICO (—); EXTRAÍDO COM METÓXIDO DE POTÁSSIO (—); E EXTRAÍDO COM METANOL (—). ....	42
FIGURA 22- EM A) ESTRUTURA QUÍMICA DA MOLÉCULA DA VITAMINA E E EM B) DESPROTONADA. ....	45
FIGURA 23 – VALORES PREDITOS VERSUS OBSERVADOS PARA OS RESULTADOS DO PLANEJAMENTO FATORIAL 01.....	49
FIGURA 24– SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA OS RESULTADOS DO PLANEJAMENTO FATORIAL 01. 50	
FIGURA 25– GRÁFICO DAS CONDIÇÕES ÓTIMAS PARA AS VARIÁVEIS TEMPO DE INDUÇÃO, CONCENTRAÇÃO DO ANTIOXIDANTE E PH DE EXTRAÇÃO.....	51
FIGURA 26 - VALORES PREDITOS VERSUS OBSERVADOS PARA OS RESULTADOS DO PLANEJAMENTO	

FATORIAL 02.....	53
FIGURA 27 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA OS RESULTADOS DO PLANEJAMENTO FATORIAL 02.	54
FIGURA 28 - GRÁFICO DAS CONDIÇÕES ÓTIMAS PARA AS VARIÁVEIS TEMPO DE INDUÇÃO, CONCENTRAÇÃO DO ANTIOXIDANTE E PH DE EXTRAÇÃO.....	55
FIGURA 29– CONDUTIVIDADE <i>VERSUS</i> O TEMPO DE INDUÇÃO PARA O BIODIESEL COM ANTIOXIDANTE DO RESÍDUO (—); ÁCIDO ASCÓRBICO 0,1% (—) E ANTIOXIDANTE DO RESÍDUO COM ÁCIDO ASCÓRBICO 0,1% (—). .....	56
FIGURA 30– CONDUTIVIDADE <i>VERSUS</i> O TEMPO DE INDUÇÃO PARA O BIODIESEL COM ANTIOXIDANTE DO RESÍDUO (—); ÁCIDO CÍTRICO 0,01% (—) E ANTIOXIDANTE DO RESÍDUO COM ÁCIDO CÍTRICO 0,01% (—).....	57
FIGURA 31– CONDUTIVIDADE <i>VERSUS</i> O TEMPO DE INDUÇÃO PARA O BIODIESEL COM ANTIOXIDANTE DO RESÍDUO (—); ÁCIDO CÍTRICO 0,1% (—) E ANTIOXIDANTE DO RESÍDUO COM ÁCIDO CÍTRICO 0,1% (—). .....	58

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - PERCENTAGEM DE ÁCIDOS GRAXOS NO ÓLEO DE SOJA (MENEGHETTI, 2013 ADAPTADO). .....	7
TABELA 2– PADRÕES DE QUALIDADE DO BIODIESEL SEGUNDO AS NORMAS: BRASILEIRA, EUROPEIA E AMERICANA. ....	10
TABELA 3 – VARIÁVEIS CODIFICADAS PARA O PRIMEIRO PLANEJAMENTO FATORIAL, VARIANDO A CONCENTRAÇÃO DO ANTIOXIDANTE ( 1, 6 E 11 G L <sup>-1</sup> ) E PH DE EXTRAÇÃO (1, 7 E 14). .....	30
TABELA 4 - VARIÁVEIS CODIFICADAS PARA O SEGUNDO PLANEJAMENTO FATORIAL, VARIANDO A CONCENTRAÇÃO DO ANTIOXIDANTE ( 9, 11 E 13 G L <sup>-1</sup> ) E PH DE EXTRAÇÃO (1, 7 E 14). ...	30
TABELA 5 - RESULTADOS DAS AMOSTRAS DE ÓLEO DE SOJA REFINADO COM ADIÇÃO DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL COMO ANTIOXIDANTE ANALISADAS EM DUPLICATA, PREPARADAS A PARTIR DA 1ª EXTRAÇÃO. ....	32
TABELA 6- RESULTADOS DAS AMOSTRAS DE ÓLEO DE SOJA REFINADO COM ADIÇÃO DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL COMO ANTIOXIDANTE ANALISADAS EM DUPLICATA, PREPARADAS A PARTIR DA 2ª EXTRAÇÃO. ....	33
TABELA 7– VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DO ANTIOXIDANTE DO RESÍDUO ADICIONADO AO ÓLEO DE SOJA. ....	34
TABELA 8 – RESULTADOS EM PERCENTAGEM, ANALISADOS EM DUPLICATA, PARA OS EXTRATOS DO RESÍDUO, RESÍDUO EXTRAÍDO EM MEIO ÁCIDO E RESÍDUO BRUTO. ....	43
TABELA 9 – RESULTADOS EM PERCENTAGEM, ANALISADOS EM DUPLICATA, PARA OS EXTRATOS DO RESÍDUO EXTRAÍDO EM MEIO DE METANOL E RESÍDUO BRUTO. ....	44
TABELA 10 – RESULTADOS EM PERCENTAGEM, ANALISADOS EM DUPLICATA, PARA OS EXTRATOS DO RESÍDUO EXTRAÍDO EM MEIO DE METÓXIDO DE POTÁSSIO E RESÍDUO BRUTO. ....	44
TABELA 11– CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO BIODIESEL METÁLICO. ....	46
TABELA 12 – NÍVEL DE VARIAÇÃO, VARIÁVEIS INDEPENDENTES CODIFICADAS (X), ORIGINAIS (X) E TEMPO DE INDUÇÃO (Y) PARA OS ENSAIOS DE ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL. ....	48
TABELA 13 - NÍVEL DE VARIAÇÃO, VARIÁVEIS INDEPENDENTES CODIFICADAS (X), ORIGINAIS (X) E TEMPO DE INDUÇÃO (Y) PARA OS ENSAIOS DE ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL ANALISADAS EM DUPLICATA. ....	52
TABELA 14 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA A ESTABILIDADE OXIDATIVA DO BIODIESEL USANDO O DELINEAMENTO FATORIAL 3 <sup>2</sup> . ....	53
TABELA 15 – RESULTADOS DA VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DO RESÍDUO AGROINDUSTRIAL PARA MEIO ÁCIDO. ....	55

## RESUMO

BOSCHEN, N. L.; **Estudo da Aplicação de Antioxidante Natural para Biodiesel e Óleo de Soja**. 2016 66 p. Dissertação (Mestrado em Química Aplicada) Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná, UNICENTRO. Guarapuava, PR.

A utilização do biodiesel em substituição ao diesel de petróleo, aumentou significativamente os estudos relacionados a este biocombustível, sendo na produção, na qualidade, rotas alternativas e adição de diferentes antioxidantes para evitar a oxidação lipídica dos óleos. Esses compostos podem ser sintéticos ou naturais, ambos são largamente utilizados. Entretanto os sintéticos podem causar danos ao organismo humano ao contrário dos naturais. O tocoferol (vitamina E) é um exemplo de antioxidante muito utilizado devido a sua eficiência. O resíduo agroindustrial de cevada macerada contém em sua composição o tocoferol, caracterizando sua alta atividade antioxidante. O objetivo desse trabalho é utilizar o resíduo da cevada macerada como antioxidante natural aplicado ao óleo de soja e biodiesel. Como técnicas foram utilizadas espectroscopia no infravermelho próximo, espectroscopia Raman, análise de composição elementar, teste de oxidação acelerada (Rancimat<sup>®</sup> 873), sistema de microdestilação no infravermelho, análise de massa específica, condutividade, pH, viscosidade, teor de água (Karl Fischer) e o planejamento experimental foi 3<sup>2</sup>. Para tratamento e utilização do resíduo faz-se necessário várias etapas em diferentes meios: neutro, ácido e básico. Essas etapas resultaram em três processos de produção do biodiesel com adição do antioxidante natural, sem considerar as variáveis concentração do antioxidante. Resultados para o óleo de soja com a concentração de 10 g L<sup>-1</sup> do resíduo e concentração de 5,0% (v/v) do solvente de extração (ácido clorídrico), levou a um tempo de indução de (13,95±0,05) h. Quando comparado com o resultado obtido para o óleo de soja refinado comercial, sem adição do resíduo agroindustrial, o qual foi de (7,16 ±0,01) h, observa-se que o aumento na atividade antioxidante foi aproximadamente 47%. Os resultados de tempo de indução para o biodiesel com adição de ácido cítrico 0,1% foi de 5,5h, para a adição do resíduo (11 g L<sup>-1</sup>) foi de 5,8 h e para a combinação dos dois antioxidantes (resíduo+ácido cítrico) obteve-se 16,20h. Esses resultados são superiores ao exigido pela resolução da ANP, 8h.

**Palavras-chave:** resíduo agroindustrial, tocoferol, oxidação acelerada.

## ABSTRACT

BOSCHEN, N. L.; **Study of Application of Natural Antioxidant to Biodiesel and Soybean Oil**. 2016 66 p. Dissertation (Master's Degree in Applied Chemistry) Midwest State University of Paraná. Guarapuava, PR.

The use of biodiesel to replace petroleum diesel, significantly increased the studies related this biofuel, and in production, quality, alternative routes and adding different antioxidants to prevent lipid oxidation of oils. These compounds may be synthetic or natural, both are widely used. However synthetics can cause damage to the human body unlike natural. Tocopherol (vitamin E) is an example of a widely used due to its antioxidant effectiveness. The agroindustrial waste macerated barley contains in its composition tocopherol, featuring its high antioxidant activity. The objective of this paper is to use the residue of macerated barley as natural antioxidant applied to soybean oil and biodiesel. As techniques were used near infrared spectroscopy, Raman spectroscopy, elemental composition analysis, accelerated oxidation test (873 Rancimat<sup>®</sup>) micro distillation system in infrared analysis density, conductivity, pH, viscosity, water content (Karl Fischer) and the experimental design was 3<sup>2</sup>. For treatment and use of the residue is necessary several stages in different ways: neutral, acidic or basic. These steps resulted in three biodiesel production processes with the addition of natural antioxidant, without considering the variable concentration of antioxidant. Results for soybean oil in a concentration of 10 g L<sup>-1</sup> and residue concentration of 5.0% (v / v) solvent extraction (hydrochloric acid) led to an induction time of (13.95±0.05) h. When compared with the results obtained for the commercial refined soybean oil without addition of agroindustrial residue, which was (7.16±0.01) h, observed that the increase in antioxidant activity was approximately 47%. The induction time results for biodiesel by adding citric acid was 0.1% 5.5h, adding to the residue (11 g L<sup>-1</sup>) was 5.8 h for the combination of the two antioxidants (residue + citric acid) was obtained 16,20h. These results are higher than required by the resolution of the ANP, 8h.

**Key-words:** agroindustrial waste, tocopherol, accelerated oxidation.

# 1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

## 1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A crescente discussão de temas ambientais fez vir à tona um dos grandes problemas que diz respeito à destinação correta de resíduos industriais. Dentre as diversas indústrias existentes, destaca-se a do malte para cervejarias.

O aumento da produção de malte em nosso país, nos últimos anos, não deve ser analisado apenas pelo lado do favorecimento econômico que este produz. É preciso lembrar, também que, por trás da produção geram-se grandes quantidades de resíduos, que sem a destinação correta e/ou tratamento, acumulam-se, podendo levar a posteriores problemas ambientais. Todavia, vale ressaltar que a demanda por produto implica na maior geração de resíduos. Esse, derivado de um cereal, resíduo da cevada é rico em proteínas e antioxidantes como a vitamina E, podendo dependendo da técnica industrial, ser reutilizado.

A demanda por antioxidantes é grande e a maioria dos utilizados são os sintéticos, sendo os mais utilizados: hidroxianisobutilado (BHA), hidroxitoluenobutilado (BHT), galato de propila, terc-butil-hidroquinona (TBHQ), 3,4,5 ácido tri-idroxi-benzóico (PG) e sorbatos (2,4-hexadienoatos), os quais são aplicados em alimentos como aditivos, com a finalidade de prevenir a oxidação lipídica, preservar sabor e odor, além de evitar a destruição das vitaminas. Nos biocombustíveis são aplicados para evitar a oxidação em presença de oxigênio e aumento o tempo de estocagem, garantindo a qualidade do mesmo.

Devido ao grande uso de antioxidantes sintéticos, foram criadas novas legislações para o controle da quantidade máxima adicionada permitida, porém, algumas vezes, esses limites podem ser violados, acarretando doenças pela ingestão de alimentos com excesso de antioxidantes. Dessa forma, os antioxidantes naturais são uma alternativa para os alimentos e, também para os biocombustíveis, podendo ser utilizados em combinação com os sintéticos.

Várias são as fontes de antioxidantes naturais e estão presentes em diversos alimentos, resíduos de frutas, entre outras diversas fontes, como é o caso do resíduo de cevada macerada que é obtido do processo de produção de malte para cervejarias. Os principais antioxidantes naturais são as vitaminas C, A e E (tocoferol) e, outros produtos naturais, como os carotenoides, flavonoides, bem como outros polifenóis, furanoides e tióis.

O biodiesel é um dos biocombustíveis mais estudados na atualidade, devido às suas vantagens frente ao diesel e ao apelo por energias renováveis provenientes de outras fontes que não sejam o petróleo. Dentre os métodos para a produção do biodiesel, a mais utilizada é a reação de transesterificação, método que é estimulado pelo Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel no Brasil. O biodiesel é produzido a partir de óleos vegetais ou gorduras animais, podendo substituir total ou parcialmente o diesel. Atualmente 7% de biodiesel é adicionado ao diesel, e essa quantidade tende a aumentar ao longo dos anos.

Para garantir a qualidade do biodiesel que é produzido no país a ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis desenvolveu resoluções para a caracterização do combustível; a mais recente é a resolução N°45 de 2014.

Técnicas de extração e uso do antioxidante extraído do resíduo para o biodiesel podem levar ao aumento da estocagem deste biocombustível e até modificações no seu processo de produção.

Diante do exposto, o objeto de estudo deste trabalho é um antioxidante natural, obtido através da extração ácida de um resíduo agroindustrial de cevada macerada, proveniente da indústria de malte, para aplicação em óleo de soja e no biodiesel metílico derivado da mesma oleaginosa. Onde técnicas de extração serão testadas a fim de selecionar a mais adequada para uso em biodiesel.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Aperfeiçoar os parâmetros para utilização do resíduo de cevada macerada como antioxidante de óleo de soja refinado e biodiesel metílico produzido a partir do óleo de soja refinado.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Aperfeiçoar as condições de extração do antioxidante do resíduo;
2. Aplicação das condições de extração para utilização do resíduo de cevada macerada como antioxidante;
3. Realizar um estudo para determinar a sua eficácia como antioxidante no óleo de soja e no biodiesel derivado da mesma oleaginosa.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 ÓLEO DE SOJA

A soja, matéria prima para a produção de óleo de soja, é a cultura agrícola que mais cresceu nas últimas três décadas e corresponde a 49% da área plantada em grãos no país. Tem um papel importante na economia brasileira. Cerca de 24 bilhões de dólares foram movimentados em 2011 com exportações do grão de soja, farelo e óleo (ABIOVE, 2016 e MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2016).

Entre os maiores produtores de soja estão os países: Estados Unidos, Brasil, Argentina, China, Índia, Paraguai e Bolívia (GORJI; GHANEI, 2014, p.48).

A soja representa, em nível mundial, o papel de principal oleaginosa produzida e consumida. Esse fato se justifica devido à importância do produto para consumo animal, através de farelo de soja, e também para consumo humano, através do óleo refinado. O Brasil é o segundo maior produtor e processador mundial da soja em grão do mundo e o segundo exportador mundial de soja, farelo e óleo. A soja pode ser fonte de proteínas inesgotáveis da alimentação humana e de grande parte dos animais (DA SILVA; DE LIMA; BATISTA, 2016). O Brasil exportou, em 2015, cerca de 1.085.373 toneladas de óleo de soja somente para a Ásia (exceto China). O total de exportação do óleo de soja no ano de 2015 chegou a 1.660.949 toneladas, sendo, no mês de agosto, o maior percentual de exportação que nos demais meses do ano. Houve crescimento de 21,8% de 2014 para 2015 no setor de exportação (ABIOVE, 2016).

O óleo de soja é um dos óleos vegetais mais utilizados para produção do biodiesel. Com viscosidade igual a 4,0 cP, densidade igual a 0,880 g cm<sup>-3</sup> e número de cetano entre 45,7 a 56,0%. A composição de ácidos graxos está apresentada na Tabela 1 (MENEGHETTI; MENEGHETTI; BRITO, 2013, p. 63 e YAAKOB, et al. 2014).

**Tabela 1** - Percentagem de ácidos graxos no óleo de soja (MENEGETTI, 2013 Adaptado).

<b>Composição de ácidos graxos (% m)</b>	
Ácido Mirístico C14:0	<0,5
Ácido Palmítico C16:0	7,0-14,0
Ácido Palmitoleico C16:1	<0,5
Ácido Esteárico C18:0	1,4-5,5
Ácido Oleico C18:1	19,0-30,0
Ácido Linoleico C18:2	44,0-62,0
Ácido Linolênico C18:3	4,0-11,0
Ácido Araquídico C20:0	<1,0
Ácido Elcosenoico C20:1	<1,0
Ácido Behênico C22:0	<0,5

Devido às características apresentadas na Tabela 1 para o óleo de soja, e que a mesma tem sua produção em larga escala no Brasil, é a oleaginosa mais utilizada na produção do biodiesel.

### **3.2 BIODIESEL**

O uso em larga escala da energia proveniente da biomassa é apontado como uma opção que poderia contribuir para o desenvolvimento sustentável nas áreas ambiental, social e econômica (LÔBO; FERREIRA; CRUZ, 2009, p.1596).

Biodiesel é um combustível derivado de óleos vegetais ou gordura animal que pode substituir total ou parcialmente o óleo diesel, derivados do petróleo. É um exemplo do emprego da biomassa para a produção de energia.

Dentre os vários métodos de obtenção deste produto, a transesterificação é o método estimulado pelo Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel no Brasil, consistindo na reação química de triglicerídeos com álcoois (metanol ou etanol) na presença de um catalisador (ácido, básico ou enzimático), resultando na substituição do grupo éster do glicerol pelo grupo hidroxila do álcool utilizado. Os catalisadores mais utilizados são homogêneos alcalinos, que são mais eficientes, promovendo alto rendimento. Dentre estes, os alcoóxidos são mais ativos, resultando em conversão superior a 98% na reação de transesterificação, no entanto são mais sensíveis à presença de água. Os hidróxidos de sódio e de potássio, embora menos ativos, apresentam menor custo, promovem rendimentos satisfatórios e têm sido mais

amplamente empregados. A glicerina bruta é um coproduto da reação e deve ser purificada antes da venda, para aumentar a eficiência econômica do processo (SILVA; FREITAS, 2008, p.843, DABDOUB; BRONZEL; RAMPIN, 2009, p.776, MATOS, 2013 e GALLINA, 2011).

O biodiesel apresenta vantagens sobre o diesel de petróleo, é proveniente de óleos animais e vegetais, além da melhor qualidade das emissões durante o processo de combustão. Por apresentar maior viscosidade, o biodiesel proporciona maior lubrificidade que o diesel mineral, logo, tem-se observado redução no desgaste das partes móveis do motor. Por outro lado, o biodiesel possui estruturas moleculares mais simples que o seu precursor, os triacilglicerídeos, logo, sua viscosidade é comparativamente menor, apresentando maior eficiência de queima e reduzindo significativamente a deposição de resíduos nas partes internas do motor (KNOTHE, et al. 2006).

O biodiesel não contém anéis aromáticos como o diesel, mas sim ésteres metílicos, quando produzido com metanol, em diferentes níveis de saturação. Ésteres insaturados têm baixo conteúdo energético, considerando sua massa, porém devido a sua alta densidade, o biodiesel tem energia por unidade de volume. A eficiência na conversão de energia do combustível em potência é a mesma tanto para o diesel quanto para o biodiesel (KNOTHE, et al. 2006).

O diesel contém enxofre em sua composição, o qual será oxidado transformando-se em dióxido e trióxido de enxofre, que em contato com água formam ácido sulfúrico e entre outros componentes sulfatados que podem ser corrosivos, e formar partículas na exaustão, elevando o nível de material particulado. O biodiesel do óleo de soja tem pouco enxofre, porém biodiesel de outras fontes, como gordura animal, podem conter teores de enxofre.

Vários são os poluentes emitidos pelos escapamentos dos automóveis, como óxidos de carbono, óxidos de nitrogênio ( $\text{NO}_x$ ) e enxofre ( $\text{SO}_x$ ), álcoois, aldeídos, hidrocarbonetos (HC), ácidos orgânicos e material particulado. Os automóveis são responsáveis pela emissão de 10% de dióxido de carbono em termos globais (KNOTHE, et al. 2006).

O  $\text{NO}_x$ , que é formado nos motores durante o processo de combustão devido a altas temperaturas dos gases, contribui para formação de nevoeiros de fumaça tóxica, sendo de difícil controle em motores a diesel. A diminuição dos  $\text{NO}_x$  vem acompanhada do aumento do material particulado que é emitido e também do aumento do consumo do combustível (KNOTHE, et al. 2006 e ÖZENER, et al. 2014). O biodiesel pode contribuir para a redução da emissão de muitas espécies poluentes na atmosfera.

Desde 2008, o óleo diesel comercializado em todo o país passou a conter 3% de

biodiesel. Atualmente esse percentual já está fixado em 7%, publicado no diário oficial da União – DOU em 14.10.2014, sendo que esse percentual pode aumentar ao decorrer dos anos (PORTAL BRASIL, 2016). Comparando as emissões dos motores com ciclo de diesel e diesel com biodiesel, o uso do biodiesel reduziu 60% da emissão de óxido de carbono, porém aumentou em 80% a concentração de NO<sub>x</sub> e aumenta o percentual de formação do ozônio (GUARIEIRO; VASCONCELLOS; SOLCI, 2011, p. 434).

Para a produção do biodiesel, via reação de transesterificação, os álcoois mais utilizados são o etanol e o metanol, devido ao tamanho das suas cadeias, que proporcionam menor impedimento estérico. A reação tem maior taxa de conversão em ésteres etílicos com menor tempo, entretanto a utilização do metanol é maior, por apresentar menor custo, ser mais polar e, conseqüentemente facilitando a separação da glicerina (VIOMAR, 2013).

### 3.2.1 Reação de Transesterificação

O álcool mais aplicado para produção do biodiesel é o metanol, devido ao seu baixo custo em alguns países. No Brasil o etanol é o mais barato, porém outros álcoois também podem ser utilizados.

Além de óleos vegetais e gordura animal, outros materiais como óleo de fritura podem ser utilizados para produção do biodiesel, porém o processo deve ser adequado ao óleo selecionado (KNOTHE, et al. 2006).

O esquema da reação de transesterificação está apresentado na Figura 1.



**Figura 1** – Reação de transesterificação do biodiesel.

*Di* e *mono*acilglicerois são formados como intermediários de reação. Como coproduto é formado o glicerol, glicerina bruta, o qual deve passar por purificação para sua aplicação industrial. O produto principal é a mistura de ésteres alquílicos.

Devido à grande utilização da reação de transesterificação, o processo é considerado um dos mais utilizados. A reação pode ocorrer com catálise ácida ou básica. Exemplos de alguns catalisadores são: hidróxidos de sódio e potássio, alcoóxidos de sódio e potássio. São esses os que proporcionam os processos mais rápidos do que os ácidos (KNOTHE, et al. 2006 e GORJI; GHANEI, 2014, p.48). Para a reação obter altos rendimentos de conversão o álcool utilizado deve ser isento de umidade.

Para garantir a qualidade do biodiesel é necessário estabelecer padrões de qualidade, com objetivo de fixar teores limites dos contaminantes que não venham prejudicar a qualidade das emissões de queima, bem como desempenho, a integridade do motor e a segurança no transporte manuseio. Também devem ser monitoradas as possíveis degradações do produto durante o processo de estocagem.

### 3.2.2 Avaliação Da Qualidade Do Biodiesel

A qualidade do biodiesel pode sofrer variações conforme as estruturas moleculares dos ésteres constituintes ou devido à presença de contaminantes oriundos de matéria prima, do processo de produção ou formadas durante a estocagem do biodiesel.

Atualmente, o padrão de qualidade americano, norma ASTM D6751, e o estabelecido na União Europeia, norma EN 12214 do Comitê Europeu de Normalização figuram como os mais conhecidos e são geralmente usados como referência ou base para outros padrões de qualidade. No Brasil a Resolução nº 45 de 25.8.2014 DOU 26.8.2014 é a que torna os critérios de avaliação da qualidade do biodiesel brasileiro mais restritivo, Tabela 2 (ANP, 2014, LÔBO; FERREIRA; CRUZ, 2009, p.1596 e SETA BIOFUEL TESTING, 2016).

**Tabela 2**– Padrões de qualidade do biodiesel segundo as normas: brasileira, europeia e americana.

<b>Característica</b>	<b>Unidade</b>	<b>Brasil ANP 45/2014</b>	<b>EU EN 14214</b>	<b>EUA ASTM D6751</b>
Aspecto	---	Límpido e isento de impurezas	--	--
Massa específica a 20°C*	Kg/m <sup>3</sup>	850 -900	860-900 a 15°C	--
Viscosidade cinemática a 40°C *	mm <sup>2</sup> /s	3,0-6,0	3,5-5,0	1,9-6,0
Ponto de fulgor,*	°C	mín. 100	>101	min. 130

Característica	Unidade	Brasil ANP	EU	EUA
		45/2014	EN 14214	ASTM D6751
Cinzas sulfatadas*	% m/m	máx.0,020	0,02	0,020
Enxofre total*	mg/kg	máx. 10	10	15
Corrosividade ao cobre, 3h a 50°C *	Classificação	máx. 1	1	máx.3
Número de cetano*	--	Anotar	51	min.47
Ponto de entupimento de filtro a frio*	°C	máx. 19	Por Região	--
Sódio + Potássio	mg/Kg	máx.5	5	--
Cálcio + Magnésio	mg/Kg	máx. 5	5	5
Fósforo	mg/kg	máx.10	10	máx.0,001% m/m
Contaminação total	mg/kg	máx. 24	24	--
Teor de éster	% massa	min. 96,5	96,5	---
Índice de acidez	mg KOH/g	máx. 0,50	0,5	0,8
Glicerol Livre	% m/m	máx.0,02	0,02	0,02
Glicerol Total	% m/m	máx.0,25	0,25	0,24
Monoacilglicerol	% m/m	máx. 0,7	0,8	--
Diacilglicerol	% m/m	máx.0,20	0,2	--
Triacilglicerol	% m/m	máx.0,20	0,2	--
Metanol e/ou Etanol	% m/m	máx.0,20	0,20	--
Índice de Iodo	g I <sub>2</sub> /100 g	Anotar	120	---
Estabilidade à oxidação a 110°C	h	mín.8	6	--
Teor de Água	mg/kg	máx. 200	500	--

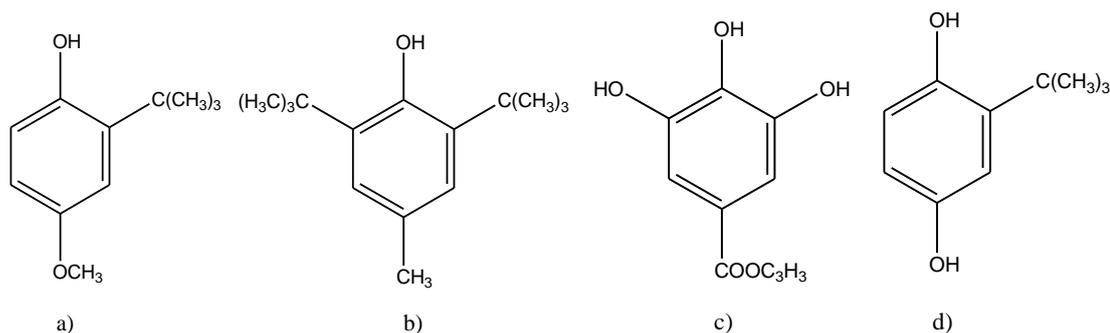
\*Parâmetros típicos da normatização para o diesel mineral.

O glicerol é insolúvel no biodiesel, sendo sua remoção facilitada por métodos de decantação. A maior parte do glicerol residual pode ser removido na etapa de lavagem aquosa, o que deixa o combustível com pouca contaminação com glicerol (KNOTHE, et al. 2006).

Álcool residual e o catalisador alcalino possuem maior solubilidade na fração

glicerínica, dessa forma, podem ser removidos durante a separação da glicerina. Porém, mesmo com a separação pode conter quantidades de álcool, qual também pode ser removido na etapa de lavagem aquosa (GERIS, et al. 2007).

Os tratamentos com inibidores de oxidação são promissores, uma vez que facilitam a estocagem em tanques já existentes e permitem a manipulação dos combustíveis sem requerer melhoramentos ou nova estrutura. Aditivos antioxidantes, como TBHQ ou BHT, são conhecidos por retardarem efeitos de oxidação na viscosidade, acidez e índice de peróxido do biodiesel. Também são muito utilizados o BHA e PG, Figura 2. Embora existam muitos estudos a respeito do efeito de antioxidantes naturais e sintéticos na estabilidade de óleos e gorduras utilizados na alimentação, pouco está disponibilizado com relação ao efeito destes no comportamento de ésteres metílicos de ácidos graxos utilizados como biodiesel (ALBUQUERQUE, et al. 2010, BORSATO, et al. 2012, DOS SANTOS, 2013, FERRARI; DE SOUZA, 2009, p.106, LÔBO; FERREIRA, 2009, p.1596 e YAAKOB, et al. 2014).



**Figura 2** – Estruturas químicas das moléculas em a) BHA, b) BHT, c) PG e d) TBHQ.

Estudos descrevem os efeitos dos antioxidantes TBHQ (Figura 2) e  $\alpha$ -tocoferóis nas propriedades de ésteres metílicos de soja e encontraram efeitos benéficos no retardo da degradação oxidativa das amostras (FERRARI, 2009).

A fim de avaliar a eficiência dos aditivos antioxidantes adicionados ao biodiesel foi realizada a análise de oxidação acelerada pelo método Rancimat<sup>®</sup>, que é um dos mais utilizados (ANTONIASSI, 2001, p. 353, CARVALHO, et al. 2013, DE OLIVEIRA, et al. 2014, DOS SANTOS, 2013, FERRARI; OLIVEIRA; SCABIO, 2005, p. 291, FOLQUENIN, 2008, LUO, et al. 2012, VIOMAR, 2013 e PINTO, et al. 2005).

### 3.3 ANTIOXIDANTES

Com a rotina de trabalho mais cansativa, falta de tempo e, até mesmo, no preparo de uma alimentação mais saudável, os produtos alimentícios industrializados vem ganhando destaque entre os consumidores. Esses alimentos vieram para ficar, sendo uma solução para vida agitada nas grandes cidades.

Desta forma, as indústrias alimentícias vêm desenvolvendo produtos e processos para a fabricação de tais alimentos e, para que esses alimentos tenham uma durabilidade maior nas prateleiras, é necessário adicionar aditivos, a fim de aumentar seu prazo de validade. Esses não devem modificar a estrutura principal dos alimentos, assim como, sabor, odor e outras propriedades específicas de cada produto.

No Brasil, o órgão responsável por fiscalizar esses aditivos, que são adicionados aos alimentos, é a ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, que define os aditivos alimentares da seguinte forma:

*“...aditivo alimentar é todo e qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos sem propósito de nutrir, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas, sensoriais, durante a fabricação, processamento, preparação, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenagem, transporte ou manipulação de um alimento” (MEDEIROS, 2011 e PORTARIA SVS/MS Nº540, 1997).*

Podem ser classificados como aditivos alimentares, espessantes, estabilizantes, edulcorantes, corantes, conservadores, aromatizantes e flavorizantes, umectantes e anti-umectantes, espumíferos e anti-espumíferos, clarificantes, antioxidantes, agentes de massa, geleificante, regulador de acidez, acidulantes, melhorador de farinha, realçador de sabor, fermento químico, glaceante, agente de firmeza, sequestrante e estabilizador de cor (PORTARIA SVS/MS Nº540, 1997).

O termo antioxidante tem natureza multifuncional, com a finalidade de inibir ou retardar a oxidação lipídica de óleos, gorduras e alimentos gordurosos. A adição desses aditivos em alimentos é requerida para preservar sabor e odor, além de evitar a destruição de vitaminas.

A composição dos lipídios é uma mistura de tri, di e monoacilglicerois, ácidos graxos livres, glicolipídios, fosfolipídios, esteróis e outras substâncias. Dentre os seus constituintes, a

maior parte pode ser oxidável de diferentes formas, porém as estruturas que são mais suscetíveis ao processo oxidativo são os ácidos graxos insaturados (RAMALHO; JORGE, 2006, p.755).

É devido a esse tipo de oxidação a ocorrência de odores nos produtos alimentícios, tornando-os impróprios para consumo humano, podendo afetar, também as propriedades do produto, ocasionado pela degradação de vitaminas.

Na seleção de antioxidantes, são desejáveis as seguintes propriedades: eficácia em baixas concentrações; ausência de efeitos indesejáveis na cor, odor, no sabor e em outras características dos alimentos; compatibilidade com o alimento e fácil aplicação; estabilidade nas condições de processo e armazenamento e o composto e seus produtos de oxidação não podem ser tóxicos, mesmo em doses maiores das que normalmente seriam ingeridas no alimento (RAMALHO; JORGE, 2006, p.755).

Os antioxidantes foram uma das primeiras classes de aditivos utilizados, para os quais foram elaboradas normas de uso, baseadas em dados nacionais para o emprego das substâncias. Ficou definido que para poder ser utilizado na indústria alimentícia deve ter um limite de ingestão diária.

No Brasil a utilização de antioxidantes em cremes vegetais, margarinas, óleos e gorduras são regulamentadas pela ANVISA- Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Os antioxidantes sintéticos que podem ser utilizados para preservar alimentos na indústria alimentícia são o hidroxianisol butilado (BHA), o hidroxitolueno butilado (BHT), galato de propila, a terc-butil-hidroquinona (TBHQ), 3,4,5 ácido triidroxibenzóico (PG) e os sorbatos (2,4-hexadienoatos) (DOMINGOS, et al. 2007, MAIA, et al 2011, RESOLUÇÃO DE DIRETORIA COLEGIADA N°23, 2005).

Várias são as fontes para obtenção de importantes antioxidantes, destacando-se resíduos de agroindústrias, resíduos da viticultura, sólidos de azeitona, de carambola, de bagaço de uva, de bagaço de maçã, de pêra e alcachofra, de folhas de chá velho e chá preto, sementes de soja, de sementes de groselha preta, sementes e cascas de semente de óleo de abóbora, de cebola, cascas de maçã, cascas de manga, cascas de cevada macerada, dentre várias outras fontes (COPPO, et al. 2014, DABINA-BICKA; KARKLINA; KRUMA, 2011, DE OLIVEIRA, et al. 2009, NASCIMENTO; ARAÚJO; MELO, 2010, p. 209 e PRÝMA, et al. 2007).

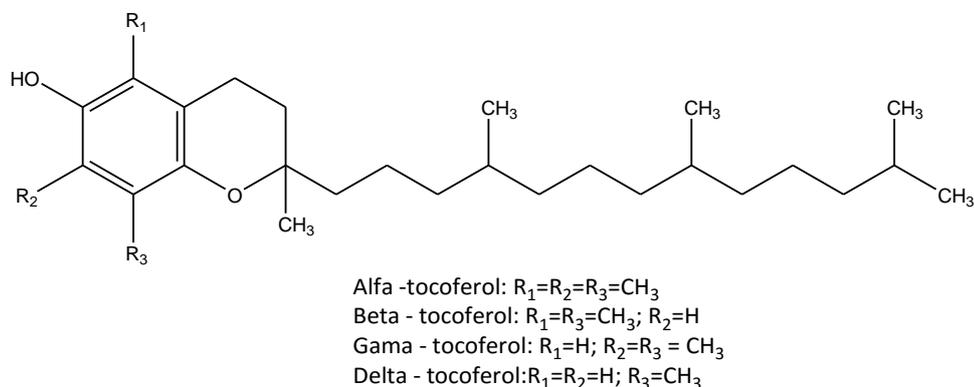
A substituição de antioxidantes sintéticos por naturais pode apresentar vantagens devido a implicações na área da saúde. Estudos toxicológicos têm demonstrado a

possibilidade de estes antioxidantes apresentarem efeito carcinogênico em experimentos com animais. Em outros estudos BHA mostrou induzir hiperplasia gastrointestinal em roedores por um mecanismo desconhecido. A redução do nível de hemoglobina e a hiperplasia de células basais foram atribuídas ao uso de TBHQ. Por esses motivos, o uso destes antioxidantes é limitado; TBHQ não é permitido no Canadá e na Comunidade Econômica Europeia. No Brasil, o uso destes antioxidantes é controlado pelo Ministério da Saúde que limita 200 mg/kg para BHA e TBHQ e 100 mg/kg para BHT como concentrações permitidas (RAMALHO; JORGE, 2006, p.755, DE OLIVEIRA, et al. 2009).

Antioxidantes com baixo peso molecular, chamados antioxidantes químicos, podem-se incluir as vitaminas C, A e E, outros produtos naturais, como os carotenoides, flavonoides, outros polifenóis, furanoides e tióis. Assim como alguns produtos sintéticos, como Ebselen<sup>®</sup>, N-acetilcisteína<sup>®</sup> e Trolox<sup>®</sup> (RAMALHO, 2006). A vitamina E destaca-se devido à sua excelente atividade antioxidante.

### 3.3.1 Vitamina E

Dentre os antioxidantes naturais mais utilizados na indústria alimentícia, podem ser citados os tocoferóis, Figura 3, ácidos fenólicos e extratos de plantas como alecrim e sálvia. A vitamina “E” é um nome genérico para todos os elementos que apresentam atividade biológica do isômero  $\alpha$ -tocoferol. Os tocoferóis são antioxidantes fenólicos, num grupo composto de quatro diferentes isômeros, que se diferenciam pelo número e posição do grupo metila, ligado ao anel fenólico.



**Figura 3-** Estrutura química da molécula da Vitamina E.

Os isômeros do tocoferol, Figura 3, também contêm uma cadeia lateral fítica que pode

ser saturada, no caso de tocoferóis e insaturada no caso de tocotrienóis, dessa maneira totalizando 8 homólogos naturais da vitamina E, que diferem em estrutura e atividade biológica. Dentre todos os tocoferóis conhecidos, o  $\alpha$ -tocoferol tem sido considerado principal antioxidante lipossolúvel, qual atua como sequestrador de radicais livres (JORDÃO-JUNIOR, et al. 1998).

Os tocoferóis, por ser um dos melhores antioxidantes naturais são amplamente aplicados como meio para inibir a oxidação dos ácidos graxos insaturados. A legislação brasileira permite a adição de 300 mg/kg de tocoferóis em óleos e gorduras, como aditivos intencionais, com função antioxidante. Os tocoferóis estão presentes de forma natural na maioria dos óleos vegetais, em alguns tipos de pescado e atualmente são fabricados por síntese (DOSSIÊ ESPECIAL, 2009).

A atividade antioxidante dos tocoferóis é devida a capacidade de doar seus hidrogênios fenólicos aos radicais livres lipídicos, interrompendo a propagação em cadeia. A atividade antioxidante relativa dos tocoferóis depende de vários parâmetros, incluindo temperatura, composição, forma da gordura e concentração de tocoferóis.

O  $\alpha$ -tocoferol pode atuar como antioxidante ou pró-oxidante, dependendo do sistema testado, da concentração, do tempo de oxidação e do método usado para acompanhar a oxidação. A concentração de tocoferol para otimizar a estabilidade oxidativa do óleo de soja está entre 400 e 600 mg/kg. Estudos definiram concentrações ótimas de 100 mg/kg para  $\alpha$ , 250 mg/kg para  $\gamma$  e 500 mg/kg para  $\delta$  tocoferóis para aumentar a estabilidade oxidativa do óleo de soja purificados e armazenados no escuro, à temperatura de 55°C (DOSSIÊ ESPECIAL, 2009).

Diante à variável aplicabilidade do tocoferol, e ao fato dos antioxidantes sintéticos poderem causar danos ao organismo humano, a aplicação destes últimos pode ser substituída parcial ou totalmente por antioxidantes naturais.

O uso de antioxidantes sintéticos tem sido restringido devido ao seu potencial de carcinogênese, bem como pela comprovação de diversos males como: aumento do peso do fígado e significativa proliferação do retículo endoplasmático (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYL, 2004, p.33, ACHKAR, et al. 2013 e SOARES, 2002).

A fim de avaliar a eficácia dos antioxidantes adicionados ao óleo e biodiesel, e também a caracterização do resíduo, faz-se necessário o uso de técnicas eletroquímica e de caracterização.

### 3.4 TÉCNICAS EMPREGADAS

Os principais métodos analíticos utilizados para se averiguar o teor de éster no biodiesel são métodos cromatográficos. Até o momento a cromatografia gasosa é a mais utilizada para análise do biodiesel, pois apresenta alta precisão na quantificação de componentes em pequena porcentagem.

Métodos espectroscópicos também são utilizados para a caracterização do biodiesel, como ressonância magnética nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e a espectroscopia na região do infravermelho próximo (NIR). Contaminantes não podem ser plenamente quantificados utilizando-se a espectroscopia no infravermelho próximo, pois a exatidão do método encontra-se na faixa de 1 a 1,5%. Entretanto, bons resultados podem ser encontrados na maioria dos casos (YAAKOB, et al. 2014).

A vantagem na utilização da espectroscopia no infravermelho próximo é a identificação dos picos na determinação de ésteres metílicos com a utilização de um espectrofotômetro sem qualquer alteração nos ajustes do instrumento. Além do monitoramento da reação de transesterificação e qualidade do combustível. O NIR pode detectar simultaneamente se o diesel de petróleo foi misturado com biodiesel ou óleos (KNOTHE, et al. 2006).

Para avaliar a estabilidade oxidativa do biodiesel produzido, um dos métodos mais utilizados é o Rancimat<sup>®</sup> (ALBUQUERQUE, et al. 2010, DE OLIVEIRA, et al. 2014, PRETO, 2012). Nos primeiros estágios do experimento o processo de oxidação ocorre de uma forma mais lenta a condutividade não varia significativamente, assim que o processo de oxidação se inicia, a condutividade aumenta, o ponto de inflexão é o tempo no qual o biodiesel ficou estável até que ocorresse o processo de oxidação. O resultado é em tempo de indução *versus* a condutividade.

Outros métodos como índice de iodo e índice de peróxido são exemplos para a determinação de estabilidade do biodiesel (YAAKOB, et al. 2014).

Outras técnicas de caracterização como a espectroscopia Raman fornecem informações essenciais a respeito de propriedades físicas, identificação de analitos, caracterização de matrizes de amostras e fornece informações úteis para a elucidação estrutural de desconhecidos. Uma das vantagens da espectroscopia Raman é a comparação que pode ser feita com a espectroscopia no infravermelho, porém o preparo da amostra no Raman torna-se mais complexa (GRASSELLI; BULKIN, 1991, p.462 e SMITH; DENT,

2005, p.210).

Para minimizar os experimentos e otimizar os resultados, a ferramenta mais utilizada são softwares com tratamento estatísticos. Um bom delineamento, a partir de um planejamento, fornece as informações necessárias para o processo, porém para sua aplicação é necessário conhecer detalhadamente seu processo e as variações que possam ocorrer para, dessa forma, analisar os fatores e as respostas interessantes para o seu desenvolvimento. As variáveis são chamadas de fatores, as quais são controladas e podem ou não sofrer as modificações afetadas pelos fatores. Quando o interesse principal é otimizar o processo ou melhorar a resposta, deve-se utilizar a metodologia da superfície de resposta (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2002, p.414, CALADO; MONTGOMERY, 2003 e ROSA, et al. 2011).

A metodologia de resposta é um conjunto de técnicas estatísticas (matemáticas) que visam desenvolver, melhorar e otimizar os processos em estudo. São técnicas amplamente utilizadas, pois fornecem resultados rápidos e certos (CALADO; MONTGOMERY, 2003). A metodologia de superfície de resposta é composta por duas etapas: 1. Modelagem e 2. Deslocamento cita BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2002.

A modelagem é responsável por ajustar o modelo, seja ele quadrático ou linear, aos resultados experimentais de acordo com o planejamento fatorial. Já o deslocamento leva ao caminho de máxima inclinação de um determinado modelo, onde se obtém como a resposta vai se comportar de forma mais pronunciada. Para N variáveis que são controladas envolvidas, faz-se necessário um planejamento com  $2^N$  ensaios diferentes. Os modelos empíricos, por regressões lineares ou não, seguem a análise da variância, utilizando o  $R^2$  que é o coeficiente de determinação e o valor estimado do teste F estudado na região experimental investigada (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010 e BOX; HUNTER; HUNTER, 1978, p.653).

## 4 METODOLOGIA

Todos os reagentes utilizados para a execução das análises eram de pureza analítica (PA).

Para obtenção do biodiesel foram utilizados metanol P.A., hidróxido de potássio P.A. e óleo de soja refinado comercial.

Para cada biodiesel foi preparada uma solução de Ácido Clorídrico 0,5% (v/v).

Solução saturada de Cloreto de Sódio.

Todas as soluções foram feitas utilizando água ultrapura originada de uma unidade de purificação Milli-Q<sup>®</sup> procedência Millipore Corporation, com condutividade de  $18 \mu\text{S}^{-1}$ .

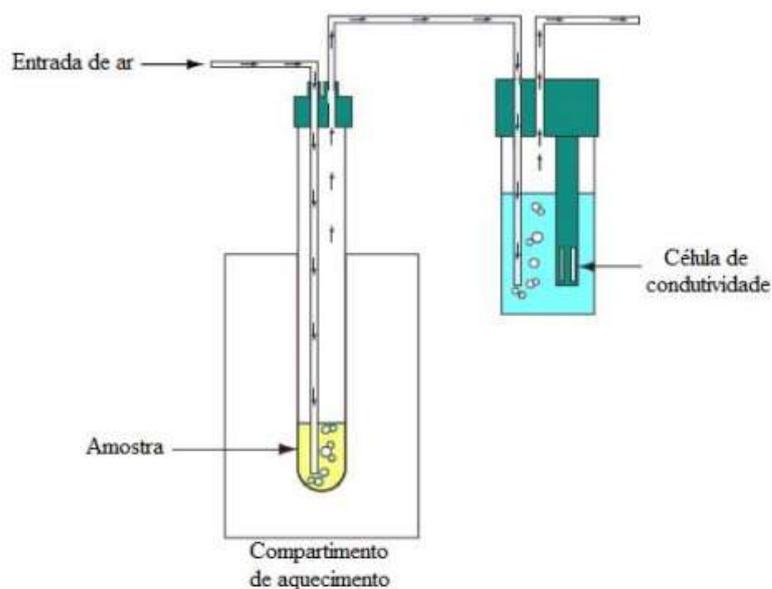
### 4.1 TÉCNICAS UTILIZADAS

Os ensaios foram realizados de acordo com a norma europeia EN 14112 e pela resolução N°45 de 2014 da ANP, utilizando-se um equipamento de oxidação acelerada 873 Biodiesel Rancimat - Metrohm<sup>®</sup>, Figura 4, acoplado a um microcomputador dotado com o software 873 Biodiesel Rancimat Control versão 1.1.

O equipamento consiste em um teste de oxidação acelerada, onde se mantém 3 g de amostra de biodiesel a 110°C em um compartimento sob fluxo contínuo de ar, taxa de insuflação de  $10 \text{ L h}^{-1}$ . Os ácidos voláteis formados durante a oxidação passam para outro compartimento, qual contém água destilada. O monitoramento da oxidação é realizado nesse compartimento, através de eletrodos de aço inoxidável pela presença de íons, Figura 5 (VIOMAR, 2013). À medida que o biodiesel é oxidado sua condutividade aumenta.



**Figura 4**– Equipamento 873 Biodiesel Rancimat - Metrohm®.



**Figura 5**– Representação do funcionamento do Rancimat® (VIOMAR, 2013).

Nos ensaios, para caracterização do resíduo, extratos e biodiesel, foram utilizados os equipamentos:

1. **Espectroscopia RAMAN**, os espectros RAMAN normal foram obtidos com radiação excitante em 1064 nm em um espectrômetro FT-Raman Bruker® RFS 100 com laser de Nd:YAG e sistema de detecção de germânio refrigerado com nitrogênio líquido. A potência utilizada variou de 150 mW (para os sólidos) e 400 mW (para os líquidos) com 1024 acumulações e resolução de  $4 \text{ cm}^{-1}$ ;
2. **Espectroscopia no Infravermelho**, equipamento da marca BrukerAlpha® com

módulo reflectância total atenuada (ATR), com 500 acumulações e resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$ ;

3. **Composição elementar** Perkin Elmer® 2400 series II;
4. **Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIR) ERASPEC**, faixa espectral de  $631 - 1350\text{ cm}^{-1}$ .

Para os ensaios de caracterização físico-química do biodiesel foram utilizadas as seguintes análises, conforme especificação, Tabela 4.

- a. Cor e aspecto visual, as análises foram realizadas utilizando 50 mL de biodiesel em uma proveta de vidro e observando-se as impurezas (ANP, 2014).
- b. Massa específica, as análises foram realizadas a  $20^{\circ}\text{C}$  em duplicata utilizando-se um densímetro de vidro Incoterm®, com haste graduada (ANP, 2014).
- c. Ponto de Fulgor, as análises foram realizadas em uma cuba de cobre contendo a amostra até a marca de referência e à temperatura elevada com agitação constante.
- d. Condutividade, as análises foram realizadas em um condutivímetro Digimed® modelo DM31.
- e. Potencial Hidrogeniônico, a análise foi realizada em um pHmetro Digimed® modelo DM20.

Para liofilização das amostras de antioxidante extraído com ácido utilizou-se o liofilizador Terroni®.

## **4.2 ANTIOXIDANTES UTILIZADOS**

### **4.2.1 Antioxidante Extraído De Resíduo Agroindustrial**

Várias são as etapas para obtenção e preparo do resíduo para que possa ser utilizado como antioxidante.

#### **4.2.1.1 Obtenção do resíduo agroindustrial**

O resíduo utilizado é originado do processo de malteação de cevada para produção do malte. Dessa forma, é composto por cascas e resíduos de cevada macerada, sendo obtido na etapa de maceração, quando o resíduo é retirado do processo. Deve ser coletado ainda fresco, ou seja, logo após o processo industrial. O tratamento/preparo do resíduo deve ser feito logo após a coleta, pois como se trata de resíduo de cereal imerso em grande volume de água pode

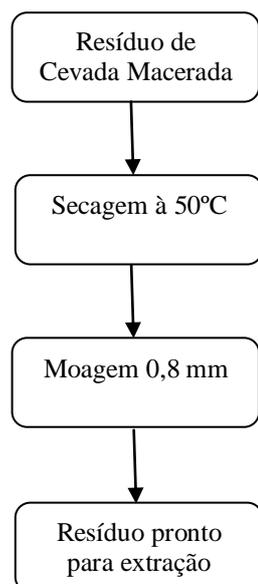
ocorrer a fermentação, qual inutilizaria o mesmo.

#### 4.2.1.2 Preparo e armazenamento do resíduo para extração

As amostras de resíduo, Figura 6, foram cedidas por uma indústria de malte da região. Logo após a coleta, estes passaram por um processo de secagem em estufa de matéria seca a 50°C por 5 horas, com a finalidade de retirar toda a umidade presente e evitar proliferação de fungos e bactérias durante o armazenamento das amostras sem deteriorá-la. Em seguida foi realizado o processo de moagem em um moinho martelo, peneiras de 0,8 mm, para diminuir e uniformizar sua granulometria. O fluxograma, Figura 7, demonstra o procedimento realizado para tratamento do resíduo. As amostras foram armazenadas em potes de plástico, em temperatura ambiente (BOSCHEN, et al. 2015 e Adaptado de MARCOS FILHO, 2015, p.660).



**Figura 6** – Resíduo agroindustrial de cevada macerada.



**Figura 7** – Fluxograma do tratamento do resíduo.

#### 4.2.1.3 Extração do resíduo

O resíduo bruto não pode ser adicionado diretamente ao óleo de soja e ao biodiesel, por se tratar de um resíduo sólido constituído por diversos compostos derivados do grão de cevada. Devido a isso, as amostras de resíduos devem sofrer um pré-tratamento para extração do antioxidante e conseqüentemente sua aplicação.

##### 4.2.1.3.1 Extração para utilização em óleo de soja

Para seleccionar a melhor metodologia de extração do antioxidante para aplicação em óleo de soja, três foram testadas: 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup>.

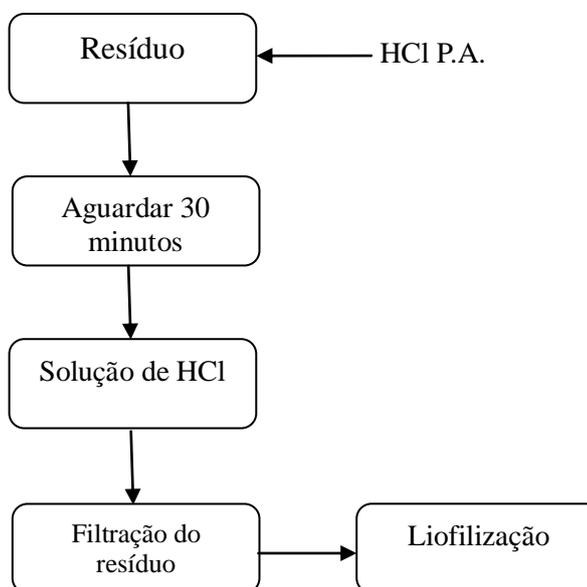
As amostras de óleo de soja refinado COCAMAR<sup>®</sup> utilizadas nas análises foram adquiridas no comércio local.

Na primeira metodologia foram preparadas três amostras em duplicata, *a*, *b* e *c*, contendo, respectivamente, resíduo nas concentrações de 1,0; 6,0 e 11,0 g L<sup>-1</sup> de massa de resíduo/volume de óleo de soja refinado, onde o resíduo foi adicionado diretamente ao óleo de soja refinado. As amostras foram estocadas em local protegido da luz, à temperatura ambiente em frascos de vidro vedados com plástico filme e papel alumínio pelo período de 120 horas. Após o período as amostras foram filtradas e analisadas (ANDREO; JORGE, 2006, p.319).

Na segunda metodologia foram preparadas três amostras em duplicata, *a*, *b* e *c*, respectivamente, contendo o extrato do resíduo nas concentrações 1,0; 5,0; e 10,0 g L<sup>-1</sup>.

Utilizou-se o álcool etílico como meio de extração do resíduo, extração direta (ANDREO; JORGE, 2006, p.319 e LEE, et al. 2012). Deixou-se o resíduo imerso em 30 mL de álcool etílico por 30 minutos, depois foi filtrado. O filtrado foi aquecido até a ebulição, até o volume este ser reduzido à metade. Então, adicionou-se ao óleo de soja refinado, mantendo-se uma agitação constante por 10 min. A mistura foi colocada em funil de decantação por 12 horas. Após a separação das fases, foi descartada a fase etanoica e o foi armazenado para análise de oxidação acelerada.

Na terceira metodologia utilizou-se duas concentrações de resíduo, de diferentes concentrações de ácido clorídrico como descrito abaixo, todas realizadas em duplicata (ANDREO; JORGE, 2006, p.319). Em *a, b, c, d e e*, a concentração do resíduo foi de  $10 \text{ g L}^{-1}$  (m/V) e a de ácido clorídrico foi, respectivamente, 0,5%, 3,0%, 5,0%, 7,0% e 10,0% (V/V), enquanto em *f, g e h*, a concentração do resíduo foi de  $13 \text{ g L}^{-1}$  (m/V) e a de ácido clorídrico, respectivamente, 0,5%, 5,0% e 10,0% V/V. O resíduo ficou em solução de ácido clorídrico por 30 minutos, seguido da filtração. O filtrado foi armazenado em placas de petri, o qual foi congelado a  $-17^{\circ}\text{C}$  por de 24 horas. Realizou-se, então, a liofilização das amostras, adicionando-se diretamente ao óleo de soja refinado para a realização da análise. A Figura 8 apresenta o fluxograma do procedimento realizado para a terceira extração.



**Figura 8** – Fluxograma para extração do resíduo para utilização em óleo de soja.

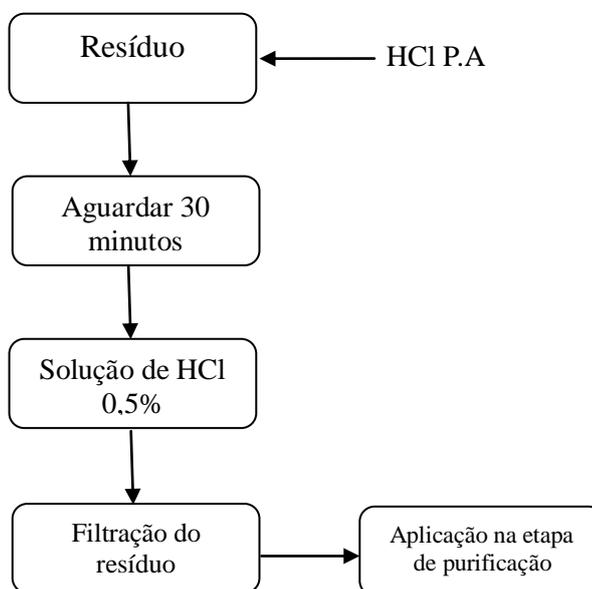
#### 4.2.1.3.2 Extração para utilização em biodiesel

A extração do resíduo realizou-se em três meios:

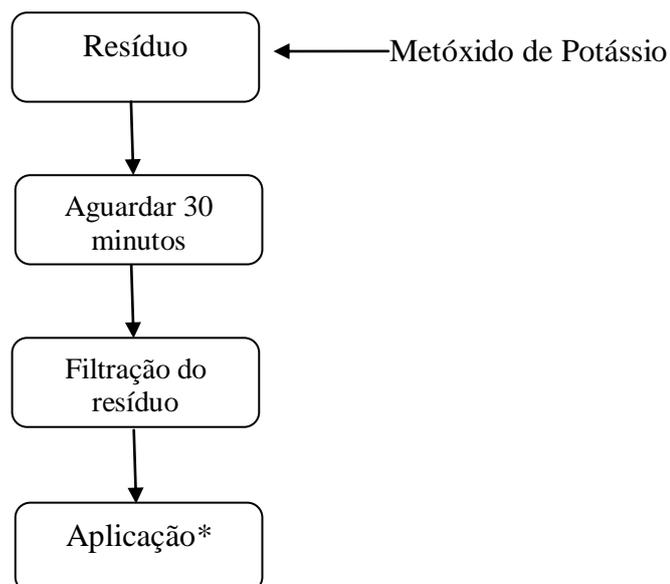
1º) meio ácido pH=1; 2º) básico pH=14; 3º) neutro pH=7. Para o meio ácido, Figura 9, utilizou-se uma solução 0,5% V/V de ácido clorídrico. Após 30 minutos do resíduo em contato com a solução de extração, filtrou-se essa solução contendo o antioxidante extraído e então utilizou-se na etapa de purificação do biodiesel (ANDREO; JORGE, 200, p.319 e BOSCHEN, et al. 2015).

Para o meio básico, Figura 10, realizou-se a mistura de 1,5% de hidróxido de potássio em 30 % de metanol do volume total de óleo (cálculo realizado a partir do volume total do óleo de soja refinado utilizado na reação de transesterificação à 50°C), extraiu-se o resíduo por 30 minutos nessa solução seguido da filtração, a solução contendo o antioxidante extraído foi utilizada para produção do biodiesel (ANDREO; JORGE, 2006, p. 319 e BOSCHEN, et al. 2015).

Para o meio neutro, Figura 11, utilizou-se 30% de metanol, (cálculo realizado a partir do volume total do óleo de soja refinado utilizado na reação), extraiu-se o resíduo por 30 minutos e então se filtrou. A solução contendo o antioxidante extraído foi utilizada para produção do biodiesel (ANDREO; JORGE, 2006, p.319 e BOSCHEN, et al. 2015).

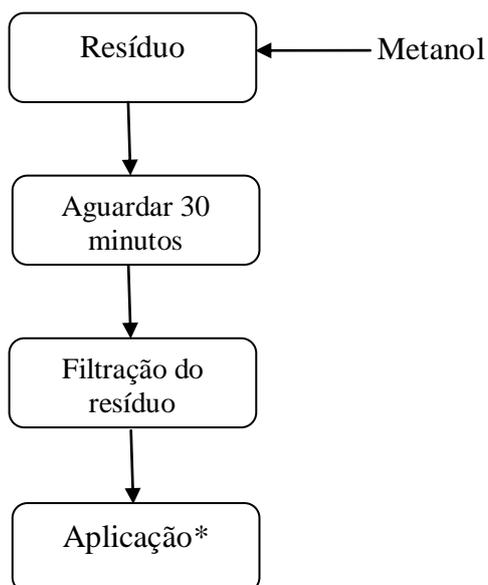


**Figura 9** – Fluxograma para extração do resíduo em meio ácido para utilização em biodiesel.



\*Aplicação na reação de transesterificação.

**Figura 10** – Fluxograma para extração do resíduo em meio de metóxido de potássio para utilização em biodiesel.



\*Aplicação na reação de transesterificação.

**Figura 11**– Fluxograma para extração do resíduo em meio de metanol para utilização em biodiesel.

#### 4.2.2 Ácido Ascórbico

O ácido ascórbico foi utilizado como antioxidante para o biodiesel, com adição diretamente ao B100, o qual permaneceu em agitação magnética por 5 minutos. A concentração adicionada foi de 0,1% (m/V). Foram preparadas amostras com a adição dos

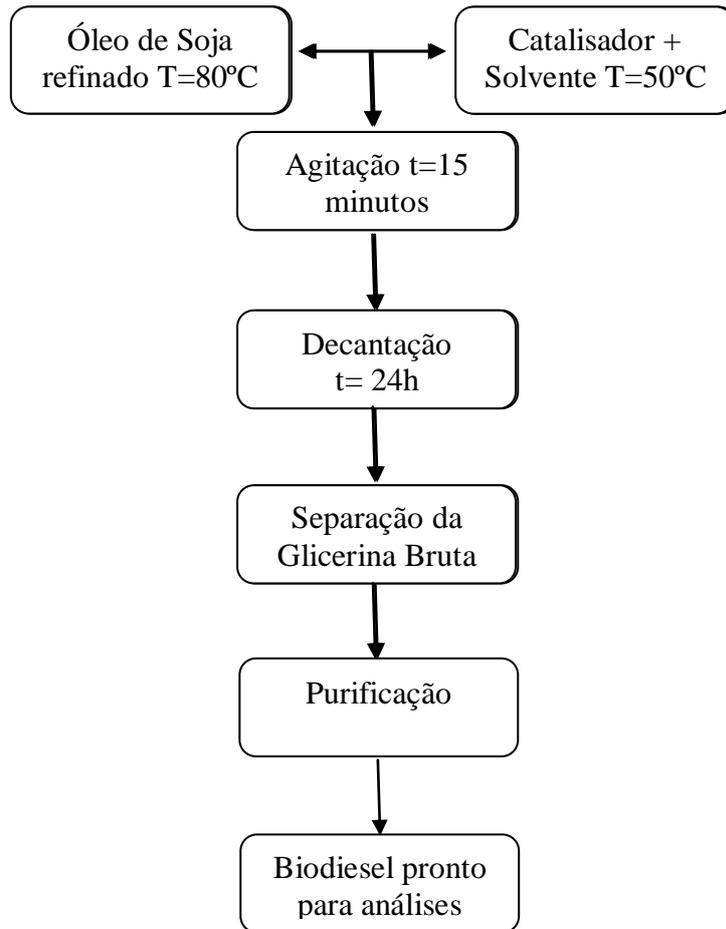
dois antioxidantes: o ácido ascórbico, 0,1% (m/V), e o proveniente do resíduo, a concentração do resíduo foi de 11 g L<sup>-1</sup> (BORSATO; DINIZ; PALADINO, 1988, p.193 e BORSATO, et al. 2010).

#### 4.2.3 Ácido Cítrico

O ácido cítrico foi utilizado como antioxidante para o biodiesel, com adição diretamente ao biocombustível, o qual permaneceu em agitação magnética por 5 minutos. As concentrações adicionadas foram de 0,01% e 0,1% (m/V). Foram preparadas amostras com a adição dos dois antioxidantes: o ácido cítrico, conforme concentrações descritas acima, e o proveniente do resíduo. A concentração utilizada do resíduo foi de 11 g L<sup>-1</sup> e a mesma para quando adicionado somente o antioxidante do resíduo ao biodiesel (BORSATO; DINIZ; PALADINO, 1988, p.193 e BORSATO, et al. 2010).

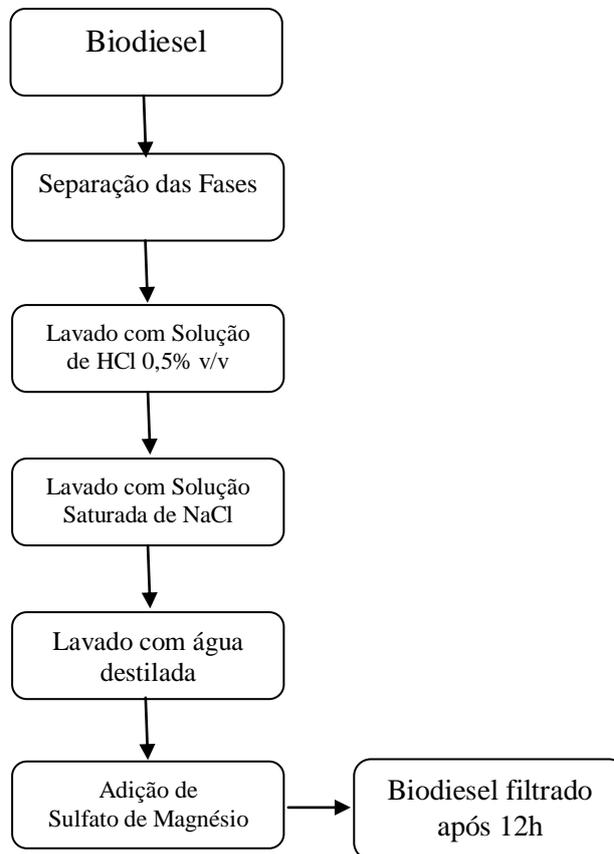
### **4.3 PRODUÇÃO DO BODIESEL E PURIFICAÇÃO**

A produção de biodiesel, Figura 12, foi realizada utilizando-se óleo de soja refinado, como fonte de triacilglicerol, como catalisador de reação o hidróxido de potássio (1,5% do volume final) e como álcool monohidroxilado de cadeia curta o metanol (30% do volume final), por meio de reação de transesterificação. Realizou-se a reação em uma capela de exaustão com pré-aquecimento do metanol à 50°C, adição do hidróxido de potássio, com agitação magnética constante até total dissolução da base. Em seguida, o óleo de soja refinado foi aquecido à 80°C e a ele foi adicionado a mistura de hidróxido de potássio e metanol (metóxido de potássio) com agitação constante até o término da reação, 15 minutos. O início da reação é indicado pela mudança de coloração do amarelo para marrom escuro e ao final retornando para amarelo (GALLINA, 2011).



**Figura 12**– Fluxograma para produção do biodiesel via reação de transesterificação.

Para purificação do biodiesel, Figura 13, aplicou-se uma sequência de procedimentos, consistindo em: 1. Separação das fases por decantação a fase superior contendo o biodiesel e a inferior contendo a glicerina bruta. Após a separação, 2. A fase superior passou pelo processo de lavagem com solução de ácido clorídrico 0,5% (v/v), que para as amostras com extração ácida, a solução continha o antioxidante extraído do resíduo e, para as extrações, básicas e neutras contendo o antioxidante do resíduo, utilizou-se somente a solução da lavagem com ácido clorídrico 0,5%v/v. 3. Lavagem com solução saturada de cloreto de sódio. 4. Lavagem com água deionizada. 5. Adição de sulfato de magnésio para retirar a umidade presente no biodiesel. 6. Filtração para retirar resíduos de sulfato de magnésio que possam estar presentes na amostra após o término da purificação. Nessa etapa o biodiesel está pronto para análises e adição de outros antioxidantes (GERIS, et al. 2007, p.1369).



**Figura 13** – Fluxograma para purificação do biodiesel.

#### 4.4 PLANEJAMENTOS FATORIAIS

Para avaliação das melhores condições de extração e concentração do antioxidante extraído, utilizou-se um planejamento de experimentos de  $3^2$ . Os planejamentos, assim como, os resultados estatísticos foram obtidos pelo Software Statistica<sup>®</sup>. Nas Tabelas 3 e 4 estão as variáveis codificadas para os planejamentos aplicados.

**Tabela 3** – Variáveis codificadas para o primeiro planejamento fatorial, variando a concentração do antioxidante (1, 6 e 11 g L<sup>-1</sup>) e pH de extração (1, 7 e 14).

Experimentos	Variáveis codificadas		
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	
1	-1	-1	
2	-1	0	
3	-1	1	
4	0	-1	
5	0	0	
6	0	1	
7	1	-1	
8	1	0	
9	1	1	

Variáveis Independentes	Níveis Codificados		
	-1	0	1
X <sub>1</sub> = Concentração do antioxidante g L <sup>-1</sup>	1	6	11
X <sub>2</sub> = pH de Extração	1	7	14

**Tabela 4** - Variáveis codificadas para o segundo planejamento fatorial, variando a concentração do antioxidante (9, 11 e 13 g L<sup>-1</sup>) e pH de extração (1, 7 e 14).

Experimentos	Variáveis codificadas		
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	
1	-1	-1	
2	-1	0	
3	-1	1	
4	0	-1	
5	0	0	
6	0	1	
7	1	-1	
8	1	0	
9	1	1	

Variáveis Independentes	Níveis Codificados		
	-1	0	1
X <sub>1</sub> = Concentração do antioxidante g L <sup>-1</sup>	9	11	13
X <sub>2</sub> = pH de Extração	1	7	14

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÕES**

Na primeira parte deste capítulo estão apresentados os resultados obtidos na aplicação do antioxidante, extraídos de resíduo agroindustrial, em óleo de soja refinado.

Na segunda parte deste capítulo, são apresentados os resultados obtidos para a aplicação do antioxidante em biodiesel de óleo de soja.

Em ambas as partes deste capítulo, foram utilizadas as técnicas eletroquímicas de oxidação acelerada. E no segundo capítulo foram utilizadas técnicas de espectroscopia RAMAN, espectroscopia no Infravermelho, espectroscopia no Infravermelho próximo e composição elementar.

## PARTE 1

### 5.1 AVALIAÇÃO DA RESPOSTA ANTIOXIDANTE DO RESÍDUO EM ÓLEO DE SOJA

Neste tópico são apresentados os resultados que foram obtidos para o antioxidante que foi extraído do resíduo e aplicado em óleo de soja refinado. As amostras foram analisadas em duplicata no Rancimat<sup>®</sup>. A média dos resultados obtidos para o óleo de soja refinado comercial, sem adição do resíduo agroindustrial, foi de (7,16 ±0,01) h.

Foram realizados ensaios de oxidação acelerada como meio para avaliar a resposta em tempo de indução do antioxidante do resíduo aplicado ao óleo. Quanto maior o resultado de tempo de indução maior a resistência à oxidação e, conseqüentemente aumenta a durabilidade do óleo.

Utilização dos critérios da oxidação acelerada para avaliação da eficiência do antioxidante adicionado ao óleo de soja refinado.

Diante dos resultados, Tabela 5, observou-se que a 1ª metodologia da extração contribuiu pouco para o aumento do tempo de indução, quando comparado à amostra sem adição do antioxidante (7,16±0,01) h. Houve aumento de 0,18 h para concentração 1,0g L<sup>-1</sup>, e de 0,17 h para concentração 6,0 g L<sup>-1</sup>. Já para a concentração de 11g L<sup>-1</sup> houve diminuição de 1h no tempo de indução. Devido a isso, outras metodologias de extração foram exploradas.

**Tabela 5** - Resultados das amostras de óleo de soja refinado com adição de resíduo agroindustrial como antioxidante analisadas em duplicata, preparadas a partir da 1ª Extração.

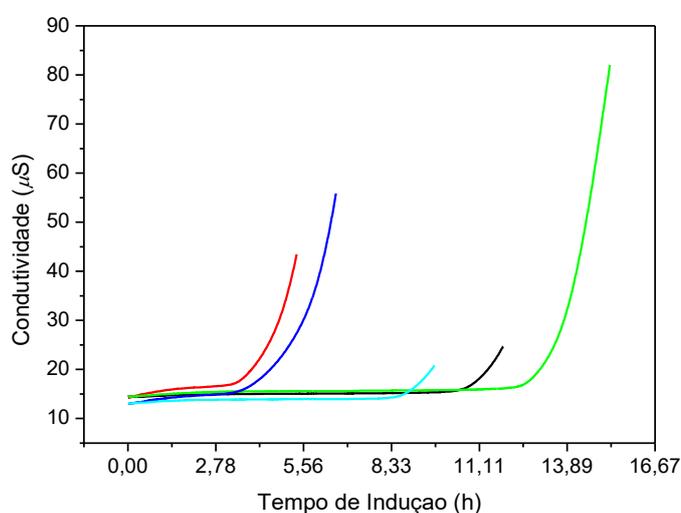
Amostra	Concentração de Resíduo (g L <sup>-1</sup> )	Tempo de indução (h)
<i>a</i>	1,0	7,34±0,15
<i>b</i>	6,0	7,33±0,40
<i>c</i>	11,0	6,16±0,10

Observa-se que os resultados para a 2ª metodologia de extração, Tabela 6, não contribuiu para o aumento do tempo de indução quando comparado à amostra sem adição do antioxidante. Na verdade, houve diminuição do tempo de indução, devido a isso a metodologia não é adequada para a extração do antioxidante.

**Tabela 6-** Resultados das amostras de óleo de soja refinado com adição de resíduo agroindustrial como antioxidante analisadas em duplicata, preparadas a partir da 2ª Extração.

Amostra	Resíduo (g L <sup>-1</sup> )	Tempo de indução (h)
A	1,0	5,98±0,21
B	5,0	5,61±0,02
C	10,0	6,26±0,29

As medidas de condutividade *versus* tempo de indução do antioxidante para a 3ª metodologia de extração podem ser visualizados na Figura 14.



**Figura 14** – Tempo de indução em função da condutividade do óleo de soja com antioxidante natural para concentração de 10 g L<sup>-1</sup> variando as concentrações da solução de ácido clorídrico, meio de extração: 0,5 (—); 3,0 (—); 5,0 (—); 7,0 (—) 10,0% v/v (—).

Nota-se na Figura 14 que o antioxidante apresentou uma melhor resposta para a concentração de 10 g L<sup>-1</sup> do resíduo e concentração de 5,0% (v/v) do solvente de extração (ácido clorídrico), levando a (13,95±0,05) h. Quando comparado com o resultado obtido para o óleo de soja refinado comercial, sem adição do resíduo agroindustrial, o qual foi de (7,16 ±0,01) h, observa-se que o aumento na atividade antioxidante foi aproximadamente 47%.

Os resultados para outras concentrações do resíduo e ácido clorídrico podem ser vistos na Tabela 7.

**Tabela 7**– Variação da concentração do antioxidante do resíduo adicionado ao óleo de soja.

<b>Amostra</b>	<b>Concentração do resíduo (cevada macerada) (g L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Concentração do ácido clorídrico (% V/V)</b>	<b>Tempo de indução (h)</b>
<i>A</i>	10,0	0,5	10,85±0,50
<i>B</i>	10,0	3,0	05,62±0,73
<i>C</i>	10,0	5,0	13,95±0,05
<i>D</i>	10,0	7,0	06,52±0,49
<i>E</i>	10,0	10,0	08,80±0,60
<i>F</i>	13,0	0,5	04,78±0,25
<i>G</i>	13,0	5,0	03,23±0,01
<i>H</i>	13,0	10,0	04,54±0,30

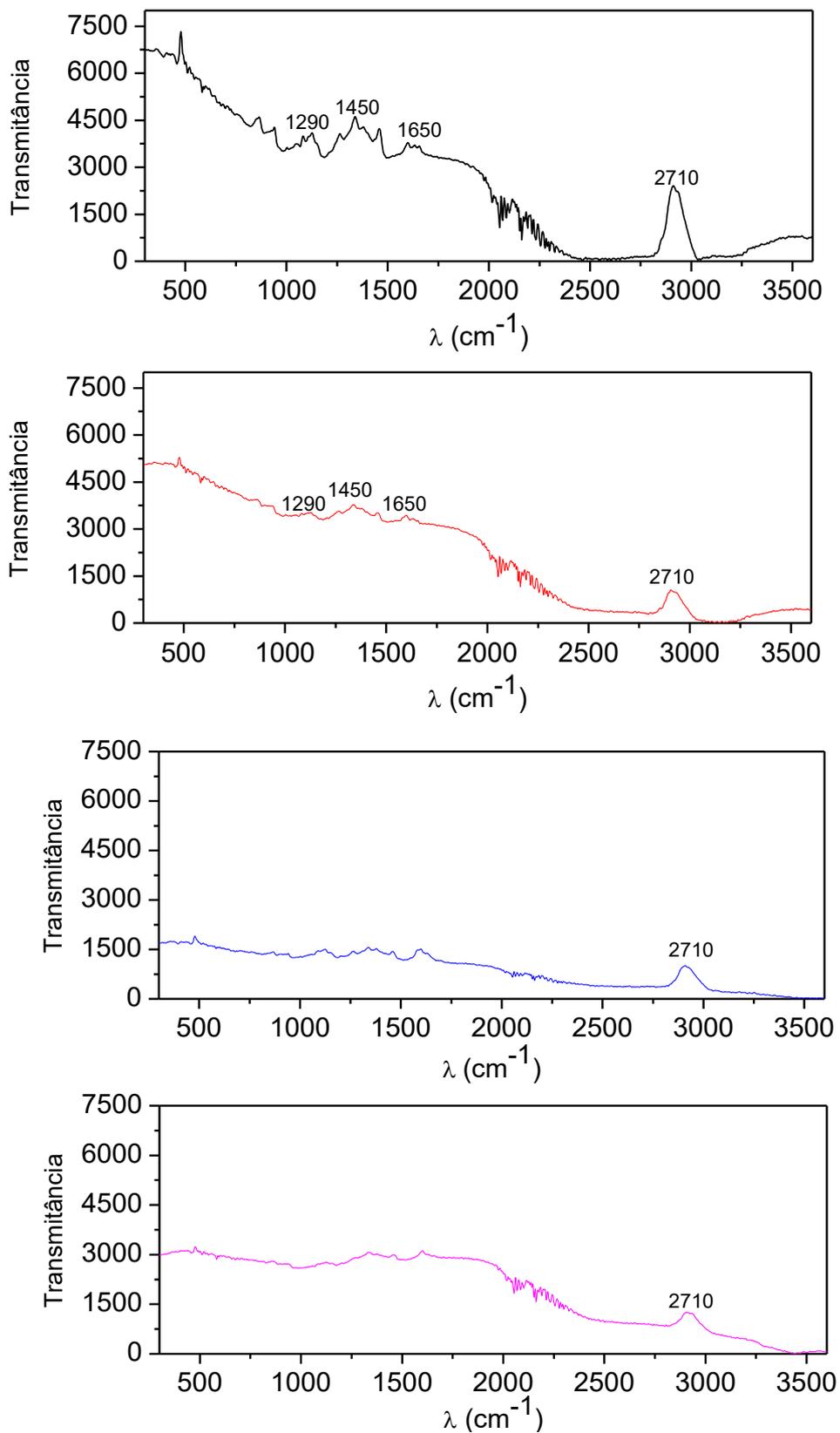
Diante dos resultados da tabela 7, confirma-se que a concentração do resíduo de 10 g L<sup>-1</sup> em 5,0% (v/v) de HCl mostrou-se mais eficiente para aplicação em óleos de soja. Assim caracteriza-se uma destinação ecologicamente correta para o uso deste resíduo agroindustrial e, conseqüentemente agregando valor ao mesmo.

## ***PARTE 2***

### **5.2 AVALIAÇÃO DA RESPOSTA ANTIOXIDANTE DO RESÍDUO EM BIODIESEL**

#### **5.2.1 Espectroscopia Raman**

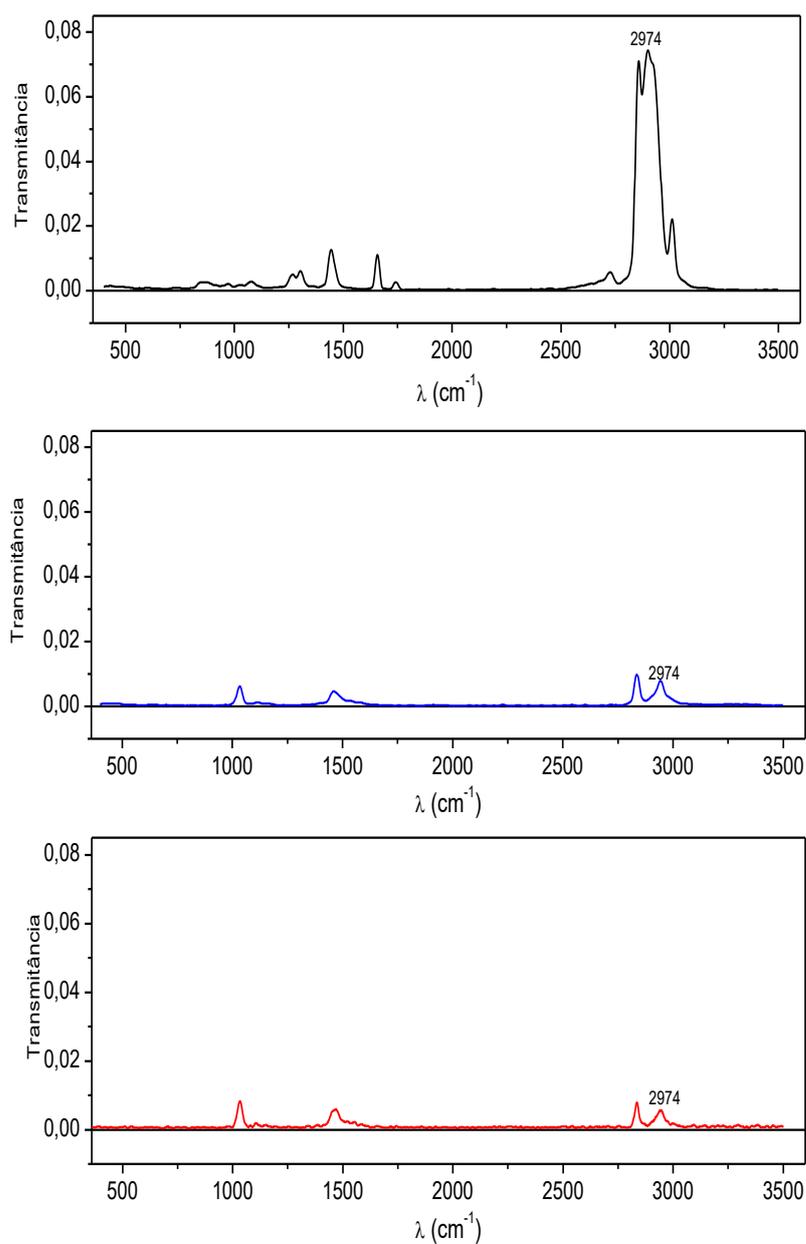
Os espectros RAMAN podem ser visualizados na Figura 15. Observa-se que a amostra, após a extração com ácido clorídrico, não sofreu modificações, quando comparado ao espectro RAMAN do resíduo bruto. Houve diminuição na intensidade da banda em  $2710\text{ cm}^{-1}$ , com sinais característicos de ligações C-H para todos os meios de extração. Podem-se destacar os sinais em  $1450$  e  $1650\text{ cm}^{-1}$  de ligações C-C aromático e em  $1290\text{ cm}^{-1}$  sinais de ligações C-C de cadeias alifáticas, para os espectros bruto e extraído com ácido clorídrico, porém para a amostra com o ácido clorídrico a intensidade apresentou-se menor.



**Figura 15** – Espectros RAMAN para as amostras de resíduos de cevada macerada: bruto (—); extraído com ácido clorídrico (—); extraído com metóxido de potássio (—); e extraído com metanol (—).

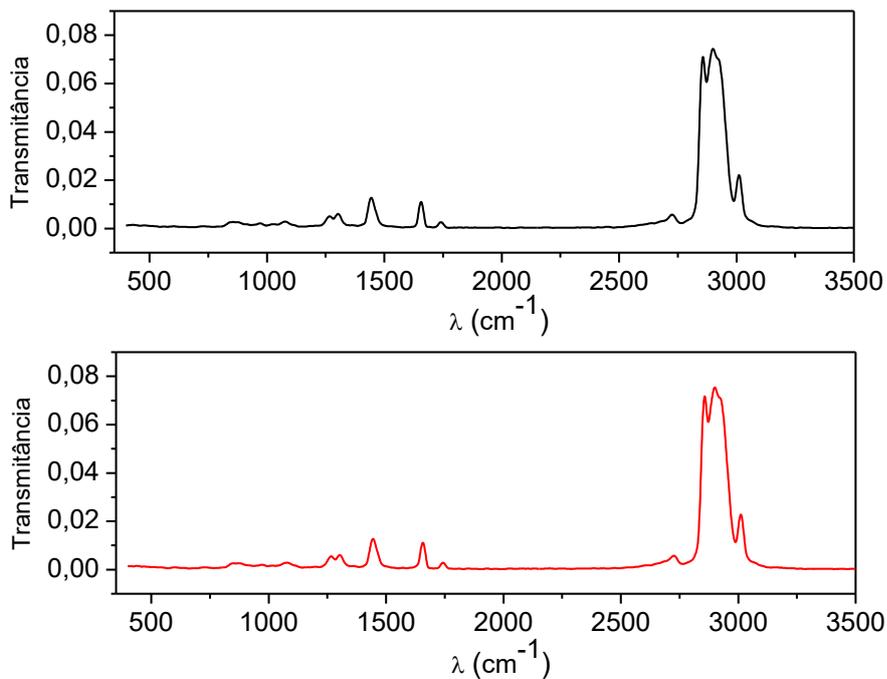
Observa-se nos espectros RAMAN, Figura 16, que a intensidade dos sinais é maior

para o extrato de ácido clorídrico do que para os demais. A banda em  $2974\text{ cm}^{-1}$  de ligações C-H<sub>2</sub> em aromático e ligações C-H. Indicando que mais componentes foram transferidos para a solução durante a extração ácida do que as demais extrações, caracterizando melhor eficiência no processo de extração, isso ocorre, porque em meio ácido a atividade antioxidante é mais intensa devido à protonação do anel aromático presente na molécula de vitamina E.



**Figura 16** – Espectros RAMAN para os extratos obtidos do resíduo de cevada macerada em meios de: ácido clorídrico (—); metóxido de potássio (—); e metanol (—).

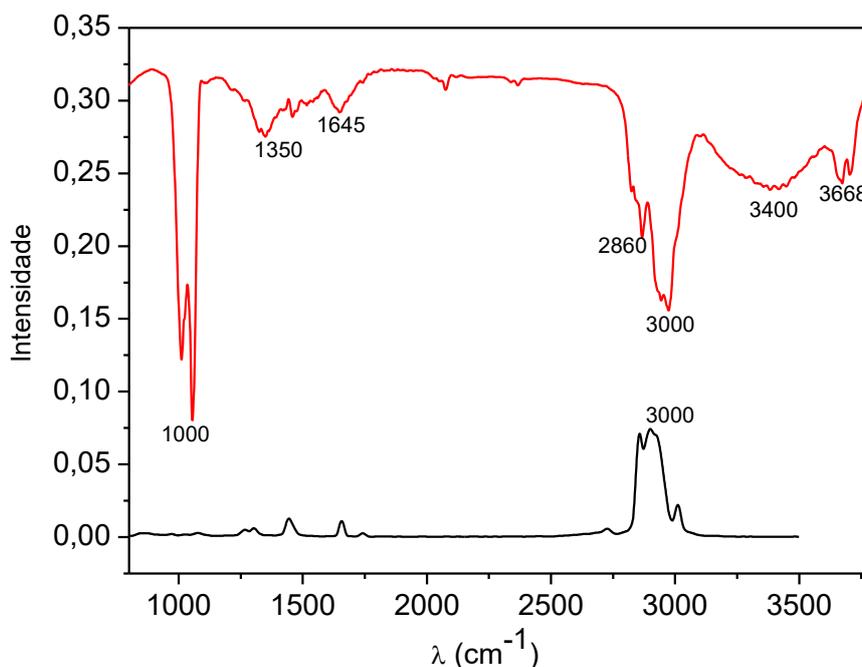
Observam-se os espectros RAMAN para as amostras de biodiesel sem e com a adição do antioxidante natural, Figura 17. Não houve alteração na intensidade e/ou deslocamento dos sinais. Demonstrando que o antioxidante pode ser adicionado ao biocombustível sem alterar as suas propriedades e estruturas, porém atua como um bom inibidor à oxidação.



**Figura 17**– Espectros RAMAN para as amostras de biodiesel (—) e biodiesel com adição de antioxidante extraído do resíduo (—).

## 5.2.2 Espectroscopia na região do Infravermelho e Raman

Na Figura 18 estão apresentados os espectros Raman e no infravermelho para os extratos ácidos do resíduo.

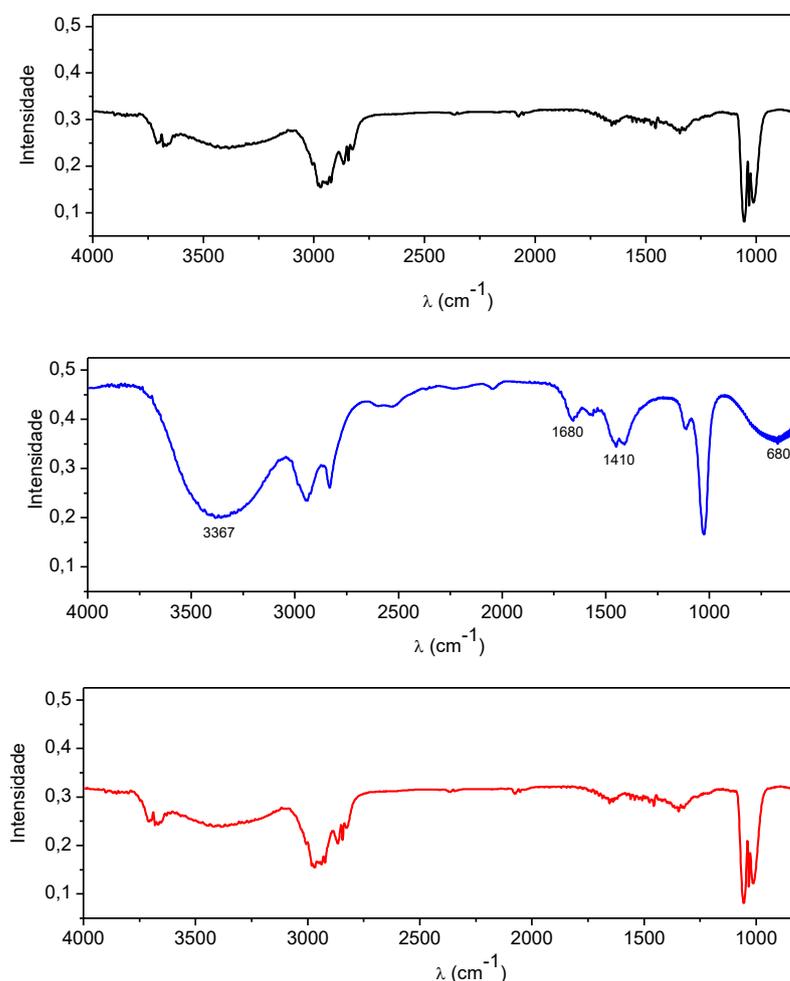


**Figura 18** – Espectros para os extratos ácidos obtidos do resíduo de cevada macerada absorção na região do Infravermelho (—) e RAMAN (—).

Os espectros no infravermelho e RAMAN, para os extratos ácidos obtidos do resíduo de cevada macerada, Figura 18, apresentam bandas em comum na faixa de  $3000\text{ cm}^{-1}$ , característicos de ligações C-H aromático. As bandas no espectro de infravermelho, na faixa de  $1000\text{ cm}^{-1}$ , são sinais característicos de ligações C-O de álcool. Em  $2860\text{ cm}^{-1}$ , sinais característicos de ligações C-H, em  $3400\text{ cm}^{-1}$ , sinais característicos de O-H, em  $3668\text{ cm}^{-1}$ , sinais característicos de O-H e N-H, em  $1350\text{ cm}^{-1}$  sinais característicos de ligações de C-CH<sub>3</sub>, e em  $1645\text{ cm}^{-1}$  sinais característicos de ligações de C=C. Com esses sinais destacados e comparando espectros de Raman para a molécula de tocoferol, conforme BEATTIE, et al. 2007, sugere-se que essa molécula esteja presente nos extratos ácidos, conforme estrutura apresentada na Figura 1.

### 5.2.3 Espectroscopia No Infravermelho

Na Figura 19 estão apresentados os espectros no infravermelho para os extratos: ácido, básico e neutro.



**Figura 19**– Espectros de absorção na região do infravermelho para os extratos de: ácido clorídrico (—); metóxido de potássio (—); e metanol (—).

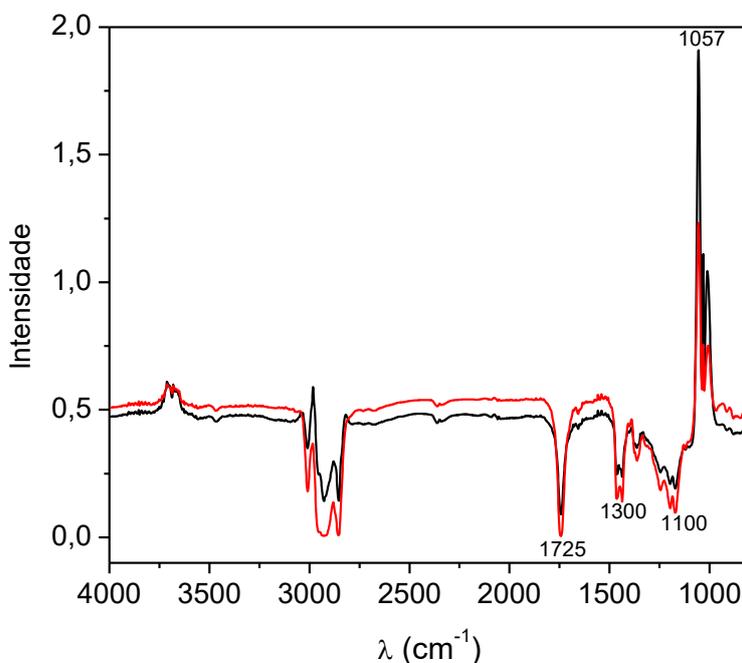
Os espectros no infravermelho, Figura 19, sugerem que não houve diferença entre a intensidade e localização dos sinais nos extratos em ácido clorídrico e em metanol. A maior diferença ocorreu para o extrato de metóxido de potássio, apresentando sinais em 680 cm<sup>-1</sup>, caracterizado por ligações de benzeno monosubstituído e 1,2,3 substituído. Sinais são observados em 1400 cm<sup>-1</sup> caracterizado por ligações C-O-O<sup>-</sup>, C-H<sub>3</sub> e C-H<sub>3</sub> em aromático e alifático, sinal em 1680 cm<sup>-1</sup> de ligações C=C e sinal em 3367 cm<sup>-1</sup> caracterizado por ligações O-H.

Os extratos de metóxido de potássio retiveram um composto que é diferente do

composto que foi extraído em meio ácido e em meio de metanol. Isso é caracterizado pelos sinais citados acima. Nos dois casos encontram-se os sinais de aromático, porém, o meio ácido apresentou melhor percentual de extração do que em metóxido de potássio. Demonstrando, dessa forma, que os compostos extraídos são diferentes, porém com algumas funções em sua molécula que são iguais.

Apesar de diferentes compostos extraídos, os dois meios (ácido e em metanol) apresentaram atividade antioxidante, mas foi em meio ácido a maior eficiência aplicado ao biodiesel metílico no teste de oxidação acelerada.

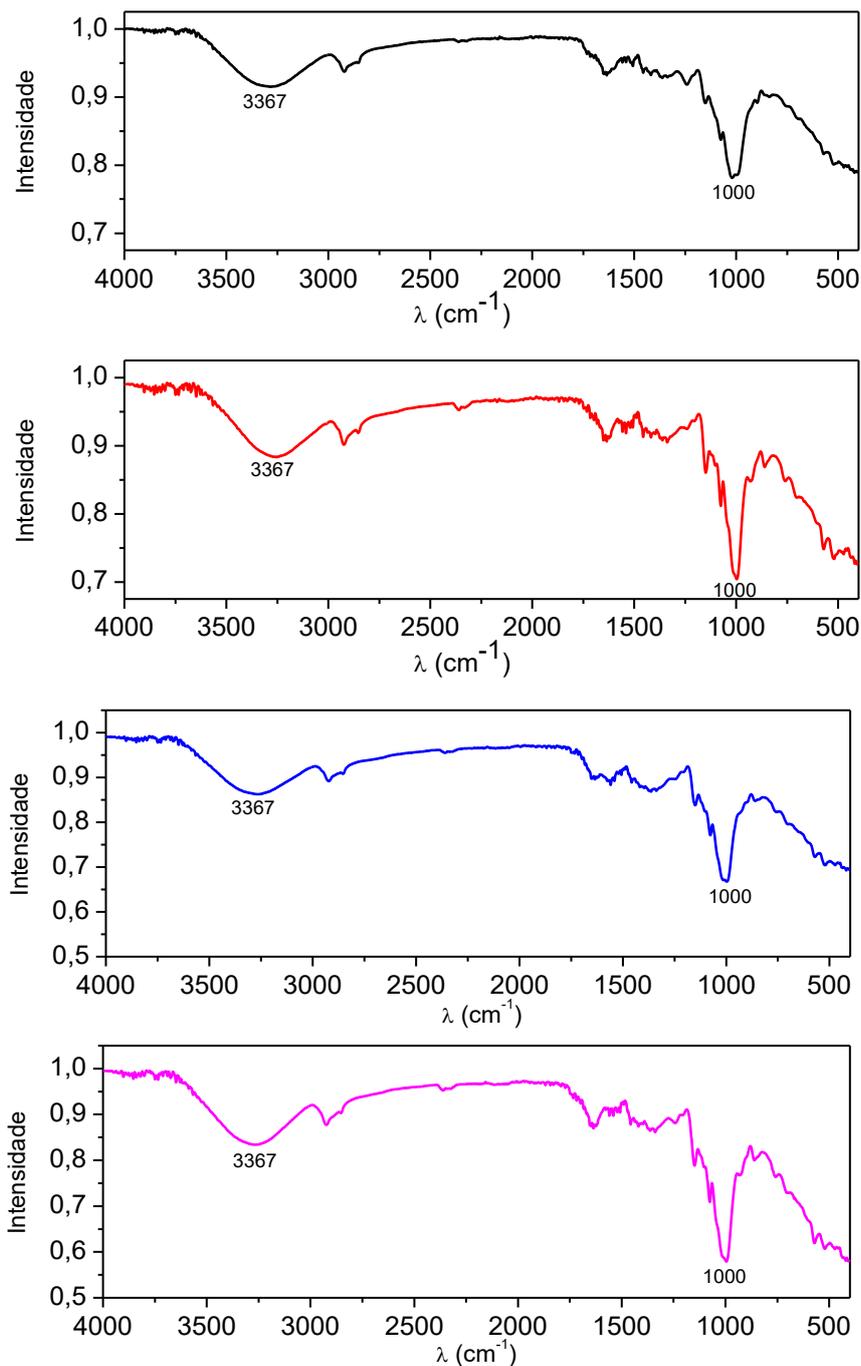
Os espectros de infravermelho para o biodiesel com extração metanólica, com e sem o antioxidante do resíduo são apresentados na Figura 20.



**Figura 20**– Espectros de absorção na região do infravermelho para as amostras de biodiesel sem antioxidante (—) e com antioxidante (—).

Nota-se nos espectros da figura 20 que não houve deslocamento dos sinais com adição do antioxidante. Verifica-se a existência de sinais característicos em  $1725\text{ cm}^{-1}$  para C=O e de  $1100$  e  $1300\text{ cm}^{-1}$  para ligações C-O. A amostra com adição de antioxidante apresenta sinal intenso em  $1057\text{ cm}^{-1}$ .

Na Figura 21 estão apresentados os espectros no infravermelho para todos os resíduos.



**Figura 21** – Espectros de absorção no infravermelho para as amostras de resíduos: bruto (—); extraído com ácido clorídrico (—); extraído com metóxido de potássio (—); e extraído com metanol (—).

Observam-se os espectros no infravermelho de todos os resíduos, Figura 21, podem-se destacar os principais sinais na faixa de  $1000\text{ cm}^{-1}$ , que são sinais característicos de ligações C-O e em  $3367\text{ cm}^{-1}$ , caracterizados por ligações O-H, onde houve aumento significativo na intensidade dos sinais, o de maior intensidade foi para extração ácida, porém não houve

deslocamento dos mesmos.

De acordo com os espectros no infravermelho, pode ser destacado que em meio ácido foram extraídos os mesmos componentes presentes no resíduo bruto, sem ocorrer uma degradação significativa no resíduo. Após a extração ácida são extraídos os compostos necessários para atuar como antioxidante no biodiesel, e em seguida o resíduo pode ser utilizado novamente para outra finalidade, como ração animal, que não seja antioxidante, pois seus compostos já foram extraídos em torno de 94,3% do volume inicial de amostra utilizado para a extração do antioxidante (BEEFPOINT, 2016, FERRINHO, et al. 2013 e SUINOCULTURA, 2016).

#### 5.2.4 Composição Elementar

Observam-se os resultados das determinações dos teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio realizados em duplicata, com valores em percentagem m/m para os extratos ácidos, resíduo extraído com ácido e bruto, Tabela 8.

**Tabela 8** – Resultados em percentagem, analisados em duplicata, para os extratos do resíduo, resíduo extraído em meio ácido e resíduo bruto.

Amostras	Carbono (% m/m)	Percentual de Carbono (%)	Hidrogênio (% m/m)	Percentual de Hidrogênio (%)	Nitrogênio (% m/m)	Percentual de Nitrogênio (%)
Extratos do resíduo em HCl	2,42±0,04	19,30	9,90±0,07	78,95	0,22±0,03	1,75
Resíduo extraído com HCl	40,52±0,09	83,80	6,63±0,02	13,72	1,18±0,09	2,44
Resíduo bruto	41,22±0,38	83,21	6,89±0,02	13,91	1,45±0,13	2,93

Destaca-se que o percentual de carbono é maior na amostra do resíduo extraído com ácido clorídrico que na amostra de extrato, devido à maior solubilidade do antioxidante obtida em meio ácido. Como se trata de meio ácido o percentual de hidrogênio aumentou, quando comparado aos resíduos. Para o nitrogênio houve pouca variação entre as amostras.

Observam-se os resultados das determinações dos teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio realizados em duplicata, com valores em percentagem m/m para os extratos ácidos,

resíduo extraído em metanol e bruto, Tabela 9.

**Tabela 9** – Resultados em percentagem, analisados em duplicata, para os extratos do resíduo extraído em meio de metanol e resíduo bruto.

Amostras	Carbono (% m/m)	Percentual de Carbono (%)	Hidrogênio (% m/m)	Percentual de Hidrogênio (%)	Nitrogênio (% m/m)	Percentual de Nitrogênio (%)
Extratos do resíduo em metanol	35,96±0,10	74,13	12,55±0,01	25,87	0	0
Resíduo extraído com metanol	40,36±0,17	83,17	6,67±0,07	13,74	1,50±0,07	3,10
Resíduo bruto	41,22±0,38	83,21	6,89±0,02	13,91	1,45±0,13	2,93

O percentual de carbono é maior na amostra do resíduo extraído com metanol, do que na amostra de extrato, porém essa variação é pequena, o que indica que 74,13% de carbono foram transferidos para o extrato. O percentual de hidrogênio se manteve para os resíduos, com aumento para os extratos. Já, para o nitrogênio não houve porcentagem para os extratos e pouca variação entre as amostras de resíduos.

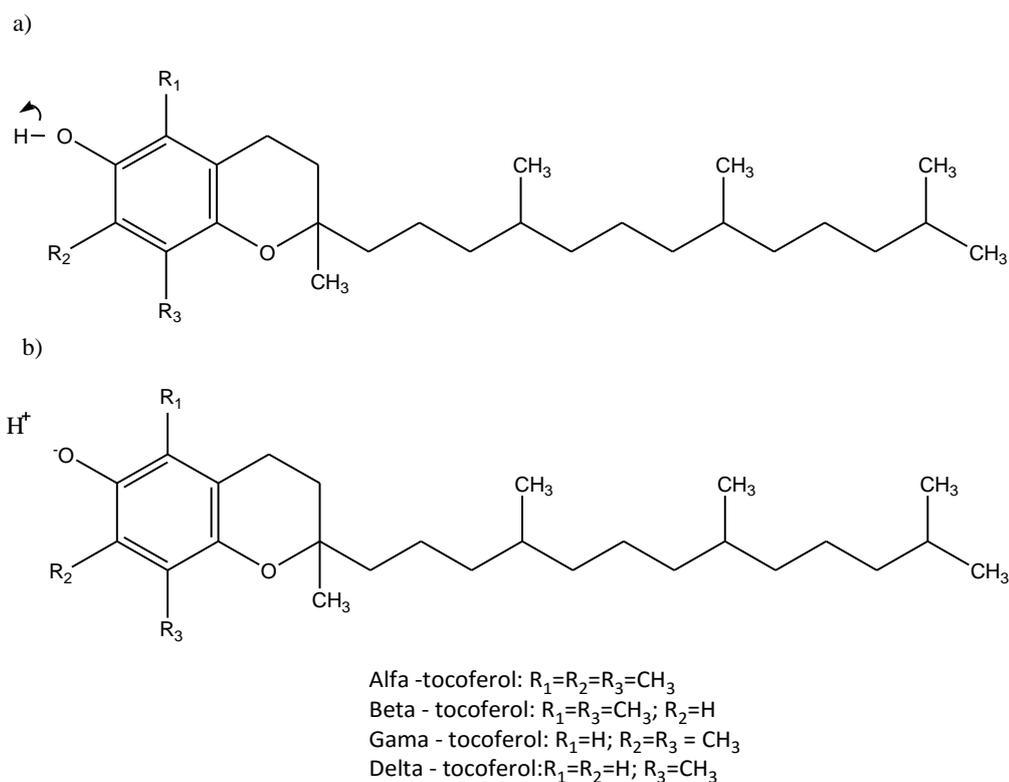
Observam-se os resultados das determinações dos teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio realizados em duplicata com valores em percentagem m/m para os extratos ácidos, resíduo extraído em metóxido de potássio e bruto, Tabela 10.

**Tabela 10** – Resultados em percentagem, analisados em duplicata, para os extratos do resíduo extraído em meio de metóxido de potássio e resíduo bruto.

Amostras	Carbono (% m/m)	Percentual de Carbono (%)	Hidrogênio (% m/m)	Percentual de Hidrogênio (%)	Nitrogênio (% m/m)	Percentual de Nitrogênio (%)
Extratos do resíduo em metóxido de Potássio	37,81±0,20	91,30	6,19±0,01	13,71	1,15±0,01	2,55
Resíduo bruto	41,22±0,38	83,21	6,89±0,02	13,91	1,45±0,13	2,93

Destaca-se que o percentual de carbono é maior na amostra de extratos de metóxido de potássio que na amostra de resíduo bruto. Não houve grande diferença entre os resultados de hidrogênio e nitrogênio, demonstrando que houve transferência de 98,6 % para o hidrogênio e de 87,0% para o nitrogênio para os extratos.

Considerando os percentuais das três extrações, foram de 5,87%, 87,24% e 91,73% para ácido clorídrico, metanol e metóxido de potássio, respectivamente. Mesmo com menor percentual de extração, o meio ácido apresentou melhores resultados. Durante a extração, ao adicionar ácido clorídrico, que é um ácido forte, diluído em água e apolar, ocorreu a protonação da hidroxila presente no anel aromático da molécula de tocoferol, Figura 3, que apesar de pouco solúvel, torna-se solúvel após a adição de ácido. Este extrato apresentou forte atividade antioxidante, atribuída ao meio ácido, mesmo com percentual de extração menor que nas extrações em metóxido de potássio e metanol, ocorrendo exatamente o contrário. O metóxido de potássio é uma base forte, o qual desprotona a hidroxila ligada ao anel aromático e, Figura 22, devido ao efeito de ressonância, resultante da desprotonação, a atividade antioxidante é menor, mesmo com percentual de extração maior. O mesmo ocorre para extração com metanol, um ácido fraco (VOLLHARDT; SCHORE, 2004, p.1112).



**Figura 22-** Em a) estrutura química da molécula da Vitamina E e em b) desprotonada.

### 5.2.5 Parâmetros De Qualidade Do Biodiesel

Na Tabela 11 estão apresentados os resultados físico-químicos das análises do biodiesel metílico sem e com a adição do antioxidante.

**Tabela 11**– Caracterização físico-química do biodiesel metílico.

<b>Característica</b>	<b>Biodiesel</b>	<b>Biodiesel com Antioxidante do resíduo</b>
Aspecto Visual	L.I.I.*	L.I.I.*
Massa específica 20°C / Kg m <sup>-3</sup>	877	880,5
Ponto de Fulgor / °C	118	140
Condutividade / µS cm <sup>-2</sup>	160,6	160,6
Potencial Hidrogeniônico	7,0±1	5,0
Estabilidade à oxidação / h	3,1	5,8
Teor de Éster / %	99,0	94,5±4,0**
Teor de umidade / mg L <sup>-1</sup>	220,1	320,5

\*L.I.I.= Límpido e isento de impurezas.

\*\* Analisado por Espectroscopia no Infravermelho.

A análise de massa específica, ponto de fulgor, condutividade, cor e aspecto não houve qualquer inconformidade gerando resultados dentro das normas específicas e coerentes entre eles.

A análise do pH do biodiesel demonstra um combustível ácido, esse comportamento está associado a formação de ácidos orgânicos durante o processo de transesterificação, também se refere ao processo de introdução do antioxidante no combustível uma vez que se trata de uma extração ácida.

O teor de éster foi determinado a partir de espectroscopia no infravermelho próximo e não por cromatográfica gasosa, como resolução da ANP N° 45 de 2014 prevê, nesse caso o biocombustível obtido com e sem a presença do antioxidante apresenta um alto teor de éster estando em conformidade com a norma ABNT NBR EN 14103, que determina que para ser considerado biodiesel o teor de éster necessita ser igual ou superior a 96,5%.

O teor de umidade determinado por Karl Fischer apresenta uma quantidade

significativa de água na amostra, comportamento atribuído à facilidade com que o biodiesel tem em absorver a umidade do ambiente. Entretanto os valores (220,1 mg L<sup>-1</sup> para o biodiesel e 320.5 mg L<sup>-1</sup> para a amostra com o antioxidante) encontram-se dentro dos padrões que determinam que o teor máximo de água é de 500 mg L<sup>-1</sup> para norma europeia, Tabela 4.

A estabilidade oxidativa da amostra foi analisada em um equipamento de oxidação acelerada. Onde para o biodiesel sem adição de antioxidantes o tempo de indução foi de 3,1 h e com a adição do antioxidante extraído do resíduo de cevada macerada o tempo de indução aumentou para 5,8h.

#### 5.2.6 Planejamentos Fatoriais

A fim de definir qual seria a melhor concentração para aplicar o antioxidante extraído do resíduo agroindustrial, as amostras de biodiesel metílico produzidas foram analisadas em duplicata de acordo com a norma europeia EN 14112, método Rancimat<sup>®</sup>, utilizando o delineamento fatorial 3<sup>2</sup>. O delineamento é composto por 9 ensaios realizados em duplicata com duas repetições do ponto central para estimar a variância do erro (MAIA, et al. 2014). A região experimental foi escolhida de acordo com ensaios preliminares. A variável 1 é a concentração do antioxidante em g L<sup>-1</sup>, a variável 2 é o pH de extração e a resposta é em termos de tempo de indução (h), para otimizar as melhores condições para extração e a concentração do antioxidante extraído. Dessa forma, observam-se, na Tabela 12, as variáveis independentes codificadas, os níveis de variação em valores originais e as respostas dos tempos de indução, expressas em valores médios de duas repetições do primeiro planejamento fatorial.

**Tabela 12** – Nível de variação, variáveis independentes codificadas (x), originais (X) e tempo de indução (Y) para os ensaios de estabilidade oxidativa do biodiesel.

Experimentos	Variáveis codificadas		Tempo de indução /h
	x <sub>1</sub>	x <sub>2</sub>	Y
1	-1	-1	5,35 ± 0,04
2	-1	0	4,90 ± 0,04
3	-1	1	5,13 ± 0,04
4	0	-1	5,02 ± 0,11
5	0	0	3,19 ± 0,21
6	0	1	3,58 ± 0,25
7	1	-1	4,90 ± 0,23
8	1	0	5,04 ± 0,04
9	1	1	4,07 ± 0,36

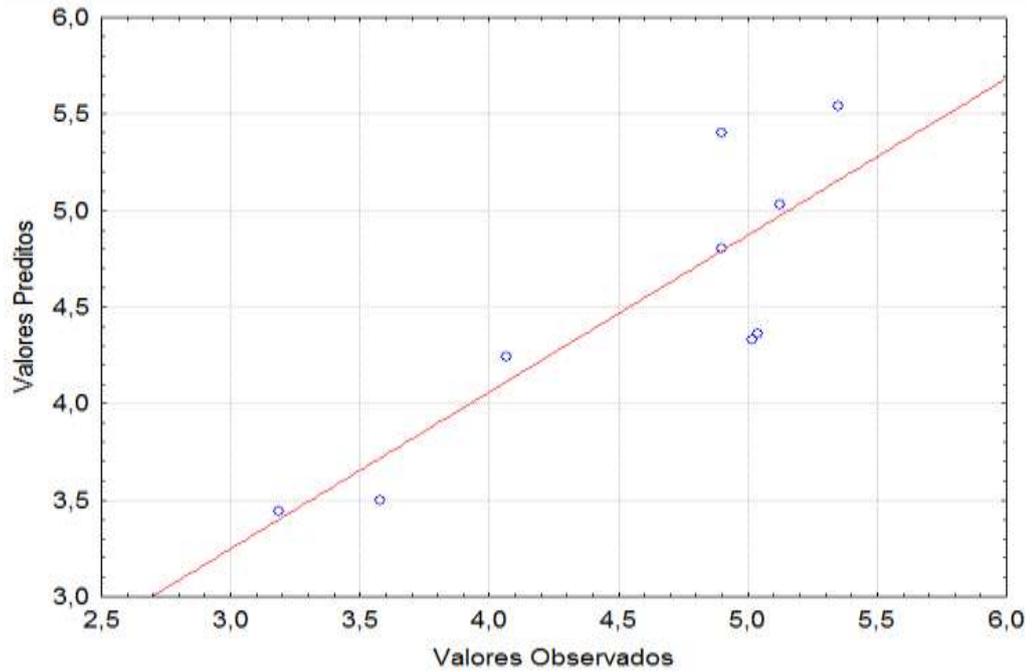
Variáveis Independentes	Níveis Codificados		
	-1	0	1
X <sub>1</sub> = Concentração do antioxidante g L <sup>-1</sup>	1	6	11
X <sub>2</sub> = pH de Extração	1	7	14

O modelo quadrático, contendo as variáveis independentes codificadas, está representado pela equação contendo os termos lineares, quadráticos e de interação onde Y é o vetor resposta.

$$Y = 3,72 - 0,22x_1 - 0,41x_2 + 0,96x_1^2 + 0,29x_2^2 - 0,15x_1x_2$$

O valor do coeficiente total de determinação observado ( $R^2$ ) e da porcentagem de variância explicada pelo modelo foram, respectivamente, de 71,96% e 60,28%.

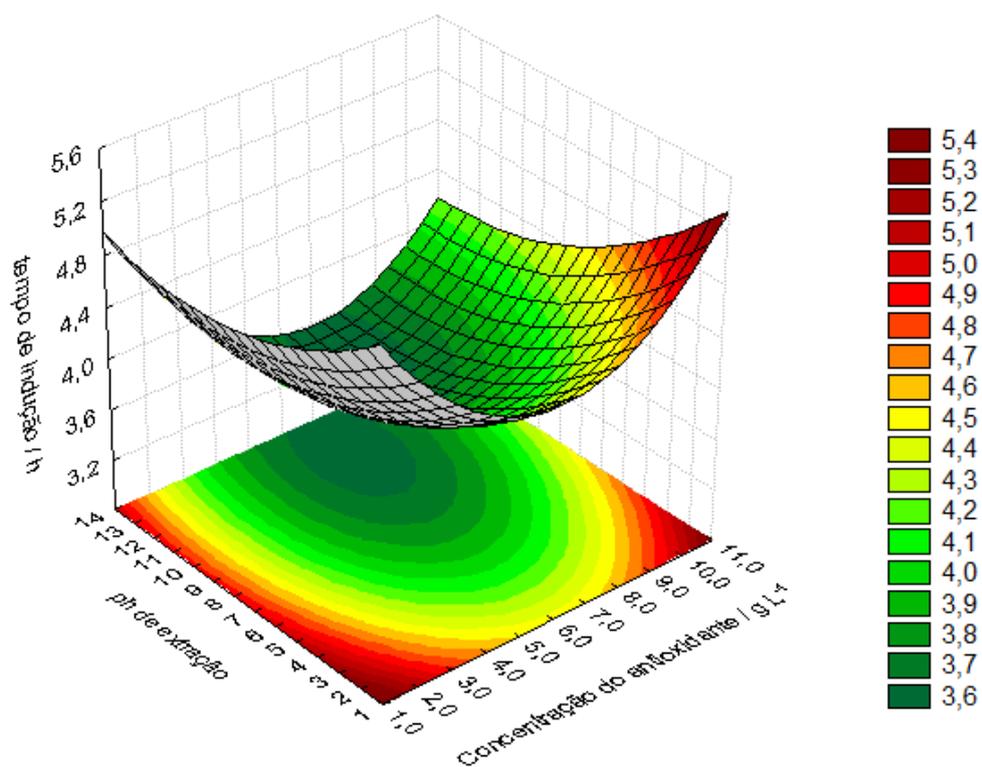
Na Figura 23 está apresentada a resposta de valores preditos *versus* observados para os resultados de tempo de indução.



**Figura 23** – Valores preditos versus observados para os resultados do planejamento fatorial 01.

Os resultados apresentados na Figura 23 mostram o ajuste dos valores teóricos com os valores experimentais, ou seja, o ajuste dos valores observados versus valores, onde o percentual de ajuste foi de 71,96%. Porém para um bom ajuste o valor deve estar acima de 80%.

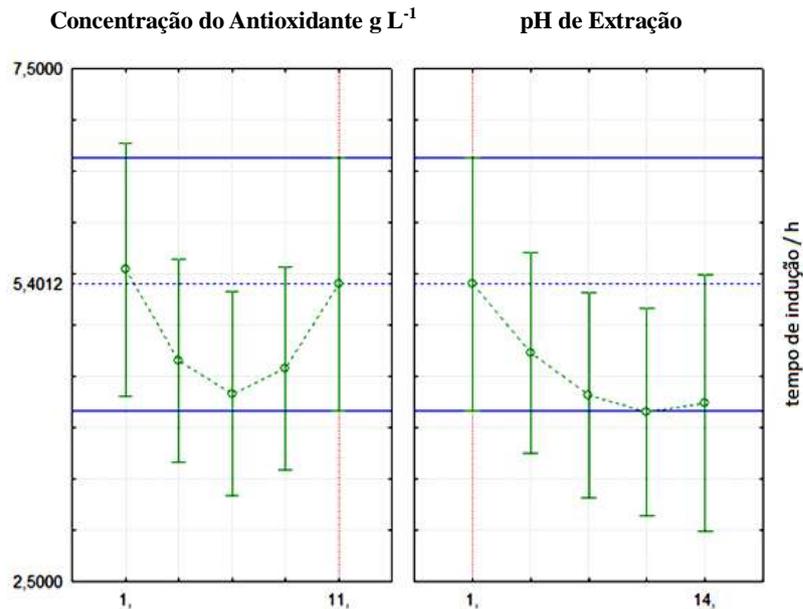
Na Figura 24 está apresentação a superfície de resposta para o modelo.



**Figura 24**– Superfície de resposta para os resultados do planejamento fatorial 01.

De acordo com a curvatura da superfície de resposta para o modelo, sendo a região de combinação binária entre as variáveis originais concentração do antioxidante e pH de extração do antioxidante do resíduo, Figura 24, os melhores resultados de tempos de indução são encontrados quando o valor de pH de extração foi igual a 1,0 e os valores de concentração de antioxidante quando igual a 1,0 e/ou 11,0 g L<sup>-1</sup>, indicando ser necessário um novo planejamento para as regiões onde a superfície aponta os melhores resultados de tempo de indução.

Para a concentração de antioxidante, o valor foi encontrado por meio do gráfico de otimização, Figura 25.



**Figura 25**– Gráfico das condições ótimas para as variáveis tempo de indução, concentração do antioxidante e pH de extração.

A fim de maximizar a resposta do tempo de indução e apresentar o resultado de cada variável envolvida no processo onde se observa o nível ótimo para cada uma. Ainda na Figura 25, obtém-se a configuração de cada fator para a melhor resposta do processo de estabilidade oxidativa do biodiesel, onde a concentração de antioxidante obtida de 11 g L<sup>-1</sup> (e também na concentração de 1 g L<sup>-1</sup>) e um pH de extração igual a 1,0, apresenta um valor de tempo de indução de 5,40 h.

A partir das respostas obtidas no planejamento, foi necessário explorar o ponto onde a concentração do antioxidante tem uma influência no tempo de indução. Foi usada assim uma pequena variação no limite superior (11 g L<sup>-1</sup>) da variável em questão, sendo assim os novos limites foram estabelecidos em 9, 11 e 13 g L<sup>-1</sup> e mantido os valores de pH = 1, 7 e 14.

A Tabela 13 apresenta as variáveis independentes codificadas, os níveis de variação em valores originais e as respostas dos tempos de indução, expressas em valores médios de duas repetições.

**Tabela 13** - Nível de variação, variáveis independentes codificadas (x), originais (X) e tempo de indução (Y) para os ensaios de estabilidade oxidativa do biodiesel analisadas em duplicata.

Experimentos	Variáveis codificadas		Tempo de indução /h
	x <sub>1</sub>	x <sub>2</sub>	Y
1	-1	-1	4,23 ± 0,20
2	-1	0	1,35 ± 0,55
3	-1	1	1,12 ± 0,01
4	0	-1	5,80 ± 0,11
5	0	0	3,60 ± 0,41
6	0	1	2,45 ± 0,16
7	1	-1	2,37 ± 0,14
8	1	0	1,90 ± 0,55
9	1	1	1,95 ± 0,10

Variáveis Independentes	Níveis Codificados		
	-1	0	1
X <sub>1</sub> = Concentração do antioxidante g L <sup>-1</sup>	9	11	13
X <sub>2</sub> = pH de Extração	1	7	14

O modelo quadrático, contendo as variáveis independentes codificadas, está representado pela equação contendo os termos lineares, quadráticos e de interação onde Y é o vetor resposta.

$$Y = 3,47 - 0,08x_1 - 1,13x_2 - 1,78x_1^2 + 0,69x_2^2 + 0,67x_1x_2$$

Na equação, Y representa o tempo de indução do biodiesel obtido pelo método EN 14112 e na forma codificada, x<sub>1</sub> representa a concentração do antioxidante e x<sub>2</sub> o pH de extração do antioxidante do resíduo. No modelo completo, apenas o termo linear da concentração do antioxidante (p=39,88%) foi não significativo em nível de 5 %, porém o termo foi mantido na equação para avaliação dos fins preditivos do modelo.

O valor do coeficiente total de determinação observado (R<sup>2</sup>) e da porcentagem de variância explicada pelo modelo foram, respectivamente, de 91,14% e 87,45%, que podem ser considerados adequados, pois, de acordo com BISHT; YADAV; DARMWAL, 2013, p.245 e MAIA, et al. 2014, para se obter um bom ajuste do modelo aos dados experimentais o valor do R<sup>2</sup> deve ser superior a 80%.

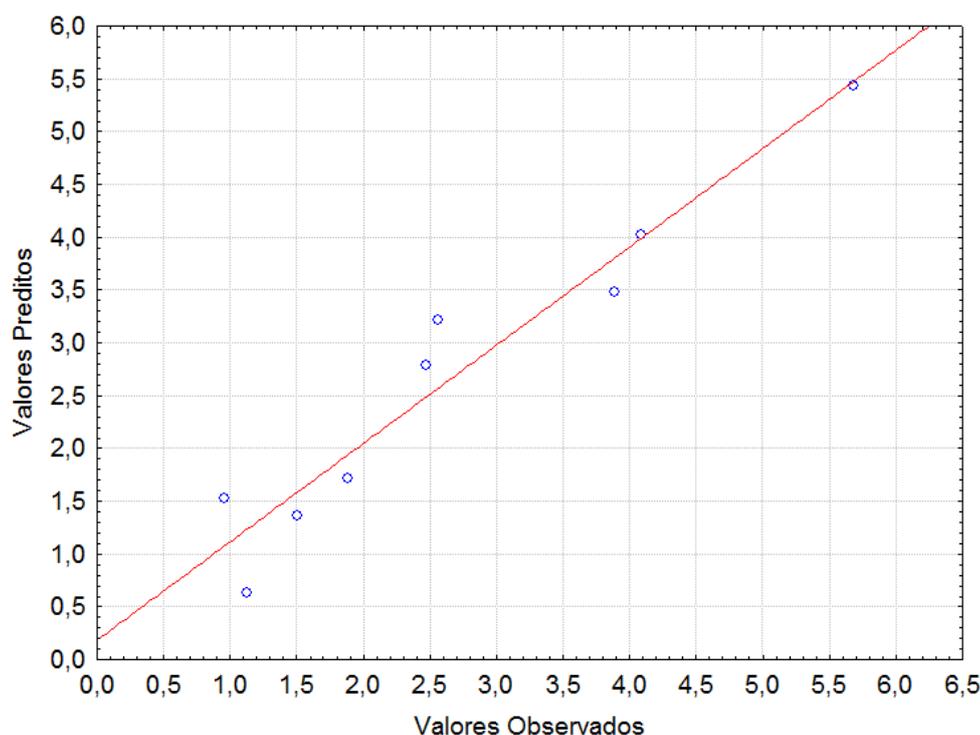
Na Tabela 14 estão apresentados os resultados para a análise de variância do modelo.

**Tabela 14** - Análise de variância para a estabilidade oxidativa do biodiesel usando o delineamento fatorial  $3^2$ .

Fonte de variação	G.L.	Soma dos quadrados	Quadrado médio	$F_{\text{calculado}}$	$F_{\text{tabelado}}$
Regressão	5	30,283	6,056	62,43	3,48
$x_1$ Linear + Quadrática	2	12,774	6,387	65,22	4,26
$X_2$ Linear + Quadrática	2	17,509	8,754	89,40	4,26
Interação	1	3,618	3,618	36,95	5,12
Desvio	3	2,411	0,803	8,21	3,86
Erro	9	0,881	0,097		
Total	17	37,194			

Na Tabela 15 foi possível observar que para a regressão, o  $F_{\text{calculado}}$  ( $F_c$ ) foi superior ao  $F_{\text{tabelado}}$  ( $F_t$ ),  $F_c = 62,43$  e  $F_t = 3,39$ , mostrando que o modelo apresentou uma regressão significativa, com os respectivos graus de liberdade. Para uma regressão ser significativa não apenas estatisticamente, mas também para fins preditivos, o valor de  $F_c$  para a regressão deve ser maior que o valor de  $F_t$ , portanto o valor do  $R^2$  e  $F_c > F_t$  sugere que a equação obtida, pode ser utilizada para fins preditivos mesmo que o desvio tenha sido significativo (BOX; WETZ, 1973, e BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2002, p.299).

Na Figura 26 está apresentada a resposta em valores preditos *versus* observados para o segundo planejamento fatorial.

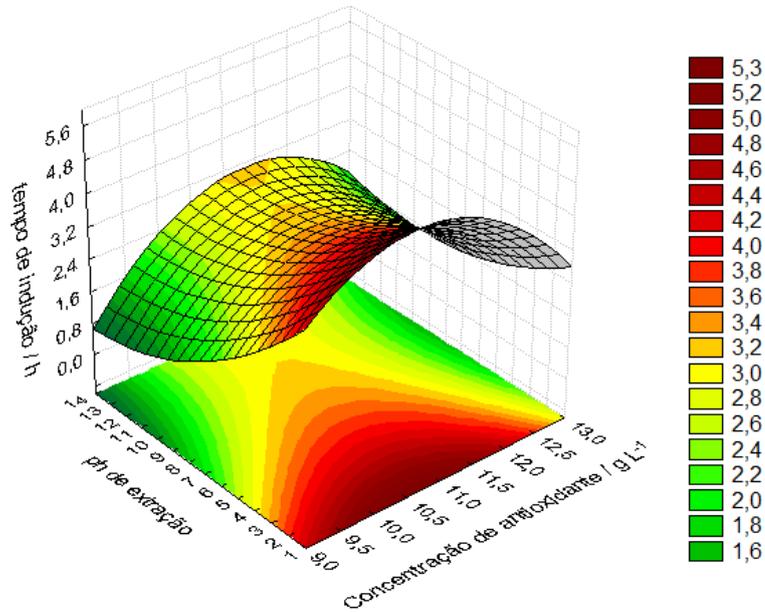


**Figura 26** - Valores preditos versus observados para os resultados do planejamento fatorial 02.

Essa resposta nos mostra o quanto os valores experimentais estão ajustados ao modelo,

ou seja, valores preditos. Os resultados observados estão ajustados 91,14% aos valores preditos, caracterizando um bom ajuste.

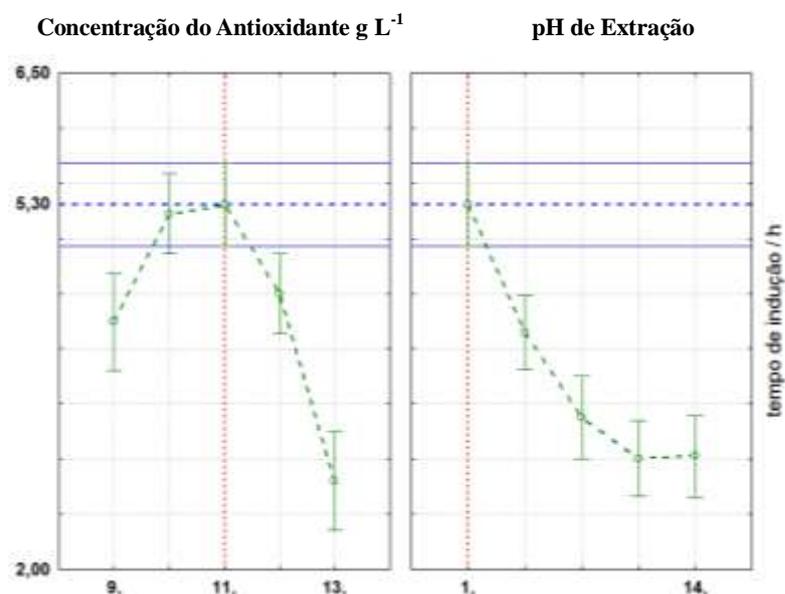
Na Figura 27 está apresentada a superfície de resposta para o segundo planejamento fatorial.



**Figura 27** - Superfície de resposta para os resultados do planejamento fatorial 02.

Na superfície de resposta, apresenta a região de combinação binária entre as variáveis originais de concentração do antioxidante e pH de extração do antioxidante do resíduo. Os melhores resultados de tempos de indução são encontrados quando o valor de pH de extração foi igual a 1 e os valores de concentração de antioxidante na região entre 10 e 11,5 g L<sup>-1</sup>. Apesar da curvatura da superfície não indicar um ponto otimizado, foi possível considerar o pH = 1 como sendo o valor ideal, pois não há a possibilidade de maior variação do mesmo.

Na Figura 28 está apresentado o gráfico de otimização para o segundo planejamento fatorial.



**Figura 28** - Gráfico das condições ótimas para as variáveis tempo de indução, concentração do antioxidante e pH de extração.

A fim de maximizar a resposta do tempo de indução e apresentar o resultado de cada variável envolvida no processo, onde se observa o nível ótimo para cada uma. Dessa forma, obtém-se a configuração de cada fator para a melhor resposta do processo de estabilidade oxidativa do biodiesel, onde a concentração de antioxidante obtida de 11 g L<sup>-1</sup> e um pH de extração igual a 1, apresenta um valor de tempo de indução de 5,30 h.

Na tabela 15, são apresentadas as respostas em tempo de indução para a validação dos resultados e uma possível variação na concentração do antioxidante.

**Tabela 15** – Resultados da variação da concentração do resíduo agroindustrial para meio ácido.

Experimentos	Concentração do antioxidante g L <sup>-1</sup>	pH de Extração	Tempo de Indução (h)
1	10,0	1,0	3,54±0,23
2	11,0	1,0	5,77±0,10
3	12,0	1,0	3,72±0,22

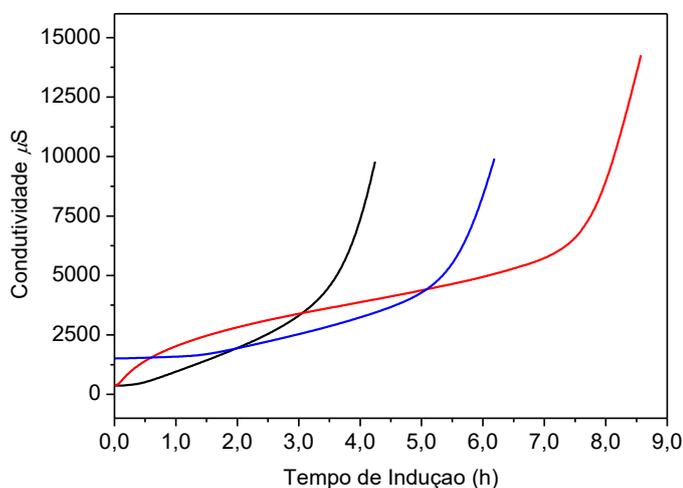
Através de testes de oxidação acelerada com a variação da concentração do antioxidante que foi extraído do resíduo em meio ácido (pH =1), foi possível confirmar que o resultado de 11 g L<sup>-1</sup> foi a melhor condição para extração do resíduo agroindustrial e aplicação em biodiesel conforme previsto pela otimização do delineamento experimental.

Mesmo com a adição do antioxidante que foi extraído do resíduo agroindustrial em meio ácido o biodiesel metílico não alcançou às seis horas previstas pela resolução da ANP N°45 de 2014, que a partir de 25 de agosto de 2014 passou para oito horas. Devido a isso, outros antioxidantes, como os ácidos ascórbico e cítrico foram testados para aumentar o tempo de indução.

### 5.2.7 Oxidação Acelerada - Comparativo De Antioxidantes

Para identificação do melhor tempo de indução para o biodiesel, foram adicionados antioxidantes: extraído do resíduo, ácido cítrico e ascórbico. Onde foram adicionados separadamente e em combinação com o extraído do resíduo.

Observam-se os gráficos de condutividade *versus* tempo de indução, Figura 29, para o biodiesel com antioxidante extraído do resíduo agroindustrial com concentração de  $11 \text{ g L}^{-1}$ , para o biodiesel com adição de 0,1% de ácido ascórbico e para o biodiesel com adição dos dois antioxidantes nas concentrações mencionadas anteriormente.

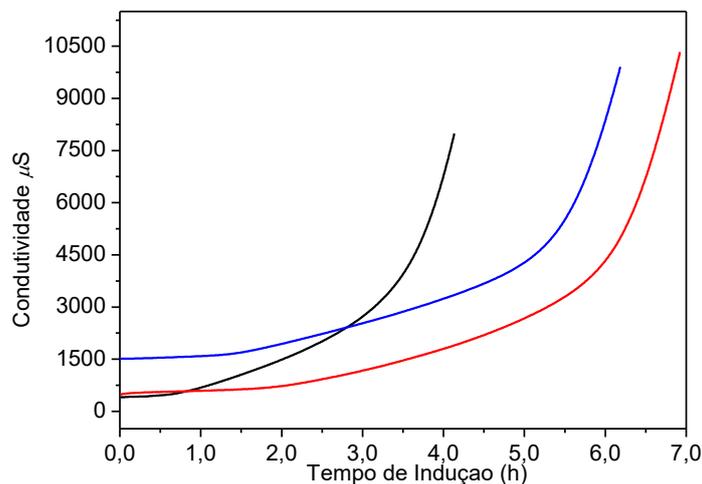


**Figura 29**– Condutividade *versus* o tempo de indução para o biodiesel com antioxidante do resíduo (—); ácido ascórbico 0,1% (—) e antioxidante do resíduo com ácido ascórbico 0,1% (—).

Os resultados de tempo de indução para o biodiesel com adição de ácido ascórbico foi de 4,2h, para o resíduo foi de 5,8 h e para a combinação dos dois antioxidantes levou a um resultado de 7,9h. Mesmo com o aumento do tempo de indução com a mistura dos antioxidantes, não atinge as oito horas descritas na resolução da ANP.

Observam-se os gráficos de condutividade *versus* tempo de indução, Figura 30, para o

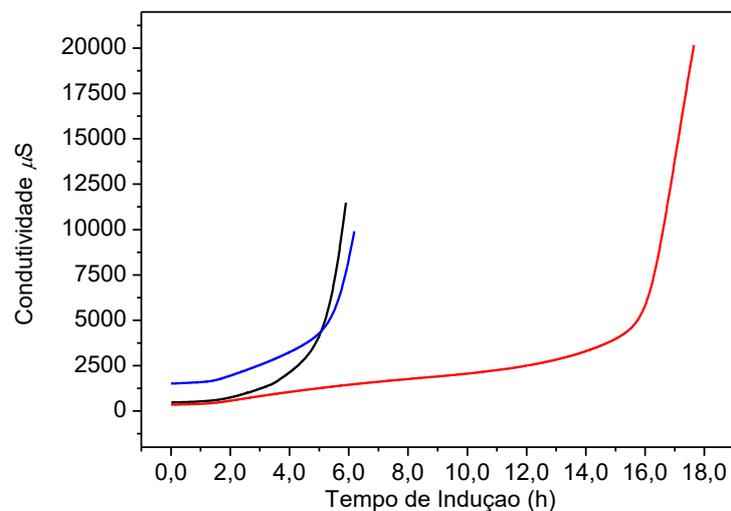
biodiesel com antioxidante extraído do resíduo agroindustrial com concentração de  $11 \text{ g L}^{-1}$ , para o biodiesel com adição de 0,01% de ácido cítrico e para o biodiesel com adição dos dois antioxidantes nas concentrações mencionadas anteriormente.



**Figura 30**– Condutividade *versus* o tempo de indução para o biodiesel com antioxidante do resíduo (—); ácido cítrico 0,01% (—) e antioxidante do resíduo com ácido cítrico 0,01% (—).

Os resultados de tempo de indução para o biodiesel com adição de ácido cítrico foi de 3,2h, para o resíduo foi de 5,8 h e para a combinação dos dois antioxidantes levou a um resultado de 6,4h. Mesmo com o aumento do tempo de indução com a mistura dos antioxidantes, não atinge oito horas descritas na resolução da ANP.

Observam-se os gráficos de condutividade *versus* tempo de indução para o biodiesel com antioxidante extraído do resíduo agroindustrial com concentração de  $11 \text{ g L}^{-1}$ , para o biodiesel com adição de 0,1% de ácido cítrico e para o biodiesel com adição dos dois antioxidantes nas concentrações mencionadas anteriormente, Figura 31.



**Figura 31**– Condutividade *versus* o tempo de indução para o biodiesel com antioxidante do resíduo (—); ácido cítrico 0,1% (—) e antioxidante do resíduo com ácido cítrico 0,1% (—).

Os resultados de tempo de indução para o biodiesel com adição de ácido cítrico 0,1% foi de 5,5h, para o resíduo foi de 5,8 h e para a combinação dos dois antioxidantes levou a um resultado de 16,20h. Portanto a melhor atividade antioxidante apresentou-se no biodiesel com adição de 11 g L<sup>-1</sup> de antioxidante do resíduo e 0,1% de ácido cítrico. Ultrapassando o tempo requerido pela resolução da ANP.

## 6 CONCLUSÕES

A primeira parte deste trabalho descreve o desenvolvimento de metodologias à aplicação de antioxidante natural para óleo de soja. Os melhores resultados eletroquímicos, com a técnica de oxidação acelerada, foram obtidos com concentração de  $10 \text{ g L}^{-1}$  do antioxidante do resíduo e concentração de 5,0 % m/v de ácido clorídrico como meio de extração. Os resultados demonstraram que a metodologia desenvolvida promoveu a atividade antioxidante ao óleo de soja, com fácil aplicabilidade, além da utilização e consequentemente destinação para o resíduo agroindustrial.

A segunda parte do trabalho mostra os estudos de caracterização do biodiesel, dos extratos do resíduo e resíduo bruto, aplicados ao biodiesel metílico de óleo de soja. Através do planejamento fatorial, a otimização para utilização do resíduo como antioxidante foram para concentração de  $11 \text{ g L}^{-1}$  e meio de extração ácida,  $\text{pH}=1$ . Através das análises de caracterização do resíduo e extratos, sugere-se que a molécula de tocoferol esteja presente no resíduo, como principal fonte antioxidante.

Desta forma, o desenvolvimento da metodologia proposta, promoveu resultados consideráveis em termos dos valores de oxidação acelerada, mostrando que o resíduo em combinação com ácido cítrico pode ser utilizado como antioxidante para biodiesel metílico de óleo de soja levando à resultados elevados de tempo de indução (16,2h). Além de reutilização de um resíduo que é gerado diariamente em toneladas, dessa forma, reduzindo impactos ambientais atrelados ao resíduo.

## **7 SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS**

- (1) Estudo do sinergismo de antioxidantes naturais (resíduo) para o biodiesel.
- (2) Estudo de mistura com outros antioxidantes naturais aplicados ao biodiesel, para melhorar a resistência à oxidação.
- (3) Estudos cinéticos da ação dos antioxidantes naturais aplicado ao biodiesel.
- (4) Caracterização do biodiesel com a adição dos antioxidantes naturais, para avaliar a qualidade do biocombustível produzido.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIOVE- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE ÓLEOS VEGETAIS. **Estatística**. Disponível em: <<http://www.abiove.org.br/site/index.php?page=estatistica&area=NC0yLTE=>>. Acesso em 31 jan.2016.

ACHKAR, M. T.; NOVAES, G. M.; SILVA, M. J. D.; VILEGAS, W. Propriedade Antioxidante de Compostos Fenólicos: Importância na Dieta e na Conservação de Alimentos. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações, v.11, n2, p. 398-406, Dez ,2013.

ALBUQUERQUE, M. H. O.; GONDIM, A. D.; MARTINS, A. F.; BRASIL, R. C. O. D.; ARAÚJO, A. S.; FERNADES JÚNIOR, V. J. Avaliação da Estabilidade Oxidativa de Biodiesel Metílico de Girassol com Adição Diferentes Concentrações de BHT pelo Método Rancimat e PDSC, 2010, João Pessoa. Inclusão Social e Energia: Anais... Campina Grande: EMBRAPA Algodão, 2010. v.1, p. 18-23.

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

ANP- AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. **Resolução ANP Nº45, de 25.8.2014 – DOU 26.8.2014**. Disponível em: <[http://nxt.anp.gov.br/nxt/gateway.dll/leg/resolucoes\\_anp/2014/agosto/ranp%2045%20-%202014.xml](http://nxt.anp.gov.br/nxt/gateway.dll/leg/resolucoes_anp/2014/agosto/ranp%2045%20-%202014.xml)>. Acesso em: 17 dez. 2015.

ANTONIASSI,R. Métodos de Avaliação da Estabilidade Oxidativa de Óleos e Gorduras. **B.CEPPA**, Curitiba, v.19, n.2, p.353-380, Jul./Dez. 2001.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e Otimização de Experimentos**. Campinas: Ed. UNICAMP, 2002. 299p.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como Fazer Experimentos**. Porto Alegre: Bookman, 2010. 414p.

BEATTIE, J. R.; MAGUIRE, C. GILCHRIST, S.; BARRETT, L. J.; CROSS, C. E.; POSSMAYER, F.; ENNIS, M. ELBORN, J. S.; CURRY, W. J.; MCGARVEY, J. J.; SCHOCK, B. C. The use of Raman Microscopy to Determine and Localize Vitamin E in Biological Samples. **The FASEB Journal**. v.21, n.1, p.766-776, Mar. 2007.

BEEFPOINT. Resíduos de Cervejaria na Nutrição de Bovinos de Corte. Disponível em: <<http://www.beefpoint.com.br/radares-tecnicos/nutricao/residuos-de-cervejaria-na-nutricao-de-bovinos-de-corte-18728/>>. Acesso em: 02 Fev. 2016.

BISHT, D.; YADAV, S. K.; DARMWAL, N. S. Computation Of Interactive Effects And Optimization Of Process Parameters For Alkaline Lipase Production By Mutant Strain Of *Pseudomonas Aeruginosa* Using Response Surface Methodology. **Brazilian Journal of**

**Microbiology**, v. 44, n.1, p.245-252, 2012.

BORSATO, D.; DALL'ANTONIA, L. H.; GUEDES, C. L.B.; MAIA, E. C. R.; FREITAS, H. R. F.; MOREIRA, I.; SPACINO, K. R. Aplicação do Delineamento Simplex-Centroide no Estudo da Cinética da Oxidação de Biodiesel B100 em Mistura com Antioxidantes Sintéticos. **Química Nova**, v.33, n.8, p.1726-1731, Out. 2010.

BORSATO, D.; DINIZ, U. D.; PALADINO, P. V. Estudo da Eficiência de Antioxidantes Através do Emprego do Delineamento Simplex-Centróide. **Semina**, v.9, n.4, p.193-197, Dez. 1988.

BORSATO, D.; MAIA, E. C. R.; DALL'ANTONIA, DA SILVA, H. C.; PEREIRA, J. L. Cinética da Oxidação de Biodiesel de Óleo de Soja em Mistura com TBHQ: Determinação do Tempo de Estocagem. **Química Nova**, v.35, n.4, p.733-737, jan 2012.

BOSCHEN, N. L.; TAKATA, N. H.; ALVES, G. J. T.; MAIA, G. A. R.; D'ELIA, E.; RODRIGUES, P. R. P. Study on the use of natural antioxidant for soybean biodiesel. **Materials and Technologies for Energy Efficiency**, Florida - USA: Brown Walker Press, p. 33-36, 2015.

BOX, G. E. P.; HUNTER, W. G.; HUNTER, J. S. **Statistics for Experimenters: An Introduction to Design, Data Analysis, and Model Building**. New York: Wiley, 1978. 653p.

BOX, G. E. P.; WETZ, J. **Criteria for judging adequacy of estimation by an approximate response function**. Wisconsin: University of Wisconsin, Tec. Report. 9, 1973.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D. C. **Planejamento de Experimentos usando o Statística**. São Paulo: E-papers Serviços Editoriais Ltda, 2003.

CARVALHO, A. L.; SANTANA, S. M. F.; SILVA, C. S.; PEPE, I. M.; BEZARRA, M. A.; ARAGÃO, L. M.; QUINTELLA, C. M.; TEIXEIRA, L. S. G.. Evaluation of the Oxidative Stability of Biodiesel Blends from Soybean, Tallow and Castor Bean using Experimental Mixture Design. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.24, n.8, p.1373-1379, 2013.

COPPO, R. L.; PEREIRA, J. L.; DA SILVA, H. C.; ANGILELLI, K. G.; RODRIGUES, P. R. P.; GALVAN, D.; BORSATO, D. Effect of Natural Antioxidants on Oxidative Stability of Biodiesel from Soybean Oil. Applying Simplex-Centroid Design. **Journal of Biobased Materials and Bioenergy**, v. 8, n.1, p.545-551, 2014.

DA SILVA, A. C.; DE LIMA, E. P. C.; BATISTA, H. R. **A Importância da Soja para o Agronegócio Brasileiro: Uma Análise sob Enfoque da produção, Emprego e Exportação**. Disponível em: < <http://www.apec.unesc.net> >. Acesso em: 31 jan. 2016.

DABDOUB, M. J.; BRONZEL, J.; RAMPIN, M.A. Biodiesel: Visão Crítica do Status e Perspectivas na Academia e na Indústria. **Química Nova**, v.32, n.3, p.776-792, Abr. 2009.

DABINA-BICKA,I.; KARKLINA, D.; KRUMA, Z. Polyphenols and Vitamin E as Potencial Antioxidants in Barley and Malt. **Foodbalt**, 2011.

DE OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A.; BECHARA,

E. J. H.; TREVISAN, M. T. S. Fontes Vegetais Naturais de Antioxidantes. **Química Nova**, v.32, n.3, p.689-702, Abr. 2009.

DE OLIVEIRA, R. S.; DA SILVA, E. A.; RODRIGUES, P. R. P.; SOUZA, S. N. M. Avaliação da Ação Antioxidante de Produtos Naturais no Biodiesel B100 (Glycine Max), **Engvista**, v.16, n.3, p.410-419, Set. 2014.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades Antioxidantes de Compostos Fenólicos. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v.5, n.1, p.33-40, Jun. 2004.

DOMINGOS, A. K.; SAAD, E. B.; VECHIATTO, W. W. D.; WILHELM, H. M.; RAMOS, L. P. The Influence of BHA and TBHQ on the Oxidation Stability of Soybean Oil Ethyl Esters (Biodiesel). **J. Braz. Chem. Soc.**, v.18, n.2, p. 416-423, 2007.

DOS SANTOS, F. F. P. **Avaliação de Antioxidantes Aplicados à Produção de Biodiesel**. 2013. 152p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE.

DOSSIÊ ESPECIAL. Os Antioxidantes. **Revista Food Ingredients Brasil**, n.6, 2009.

FERRARI, R. A.; DE SOUZA, W. L. Avaliação da Estabilidade Oxidativa de Biodiesel de Óleo de Girassol com Antioxidantes. **Química Nova**, v.32 n.1, p.106-111, Dez. 2009.

FERRARI, R. A.; OLIVEIRA, V. S.; SCABIO, A. Oxidative Stability of Biodiesel from Soybean Oil Fatty Acid Ethyl Esters. **Sci. Agric.**, Piracicaba, v.62, n.3, p.291-295, May/June 2005.

FERRINHO, A. M.; TODA, B. M.; UTEMBERGUE, B. L.; PEREIRA, A. S. C. Resíduos de Cervejaria: Uma Alternativa na Nutrição Animal em Pirassununga –SP. In: III Simpósio de Sustentabilidade e Ciência Animal, 2013.

FOLQUENIN, E. K. F. **Validação das Análises Físico-Químicas Exigidas pela ANP para Misturas: Diesel – Biodiesel**. 2008. 62 p. Dissertação (Mestrado em Química Aplicada – Química dos Materiais) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR.

GALLINA, A. L. **Uma Alternativa Sustentável para a Produção de Biodiesel: *Cyperus esculentus***. 2011. 105p. Dissertação (Mestrado em Bioenergia) – Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná, Guarapuava, PR.

GERIS, R.; DOS SANTOS, N. A. C.; AMARAL, B. A.; MAIA, I. S.; CASTRO, V. D.; CARVALHO, J. R. M. Biodiesel de Soja – Reação de Transesterificação para Aulas Práticas de Química Orgânica. **Química Nova**, v.30, n.5, p.1369-1373, Mai. 2007.

GORJI, A; GHANEI, A. A Review on Catalytic Biodiesel Production. **Journal of Biodiversity and Environmental Sciences**, v.5, n.4, p.48-59, 2014.

GRASSELLI, J. G.; BULKIN, B. J. **Analytical Raman Spectroscopy**. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1991. 462p.

GUARIEIRO, L. L. N.; VASCONCELLOS, P. C.; SOLCI, M. C. Poluentes Atmosféricos

Provenientes da Queima de Combustíveis Fósseis e Biocombustíveis: Uma Breve Revisão. **Rev. Virtual Quim.** V. 3, n.5, p. 434-445, Nov. 2011.

JORDÃO JUNIOR, A. A.; CHIARELLO, P. G.; BERNARDES, M. S. M.; VANNUCCHI, H. Peroxidação Lídica e Etanol: Papel da Glutathione Reduzida e da Vitamina E. **Medicina**, Ribeirão Preto, v.31, n.1, p.434-449, Set. 1998.

KNOTHE, G.; GERPEN, J. V.; KRAHL, J.; RAMOS, L. P. **Manual do Biodiesel**. São Paulo: Blucher, 2006. 340p.

LEE, Y. Y.; PARK, H. M.; LEE, C. K.; KIM, S. L.; HWANG, T. Y.; CHOI, M. S.; KWON, Y. U.; KIM, W. H.; KIM, S. J.; LEE, S. C.; KIM, Y. H. Comparing Extraction Methods for the Determination of Tocopherols and Tocotrienols in Seeds and Germinating Seeds of Soybean Transformed with OsHGGT. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.27, p.70-80, 2012.

LÔBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C.; CRUZ, R. S. Biodiesel: Parâmetros de Qualidade e Métodos Analíticos. **Química Nova**, v.32, n.6, p.1596-1608, Jul. 2009.

LUO, M.; ZHANG, R.; ZHENG, Z.; WANG, J.; LI, J.B. Impact of Some Natural Derivates on the Oxidative Stability of Soybean Oil Based Biodiesel. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.23, n.2, p.241-246, 2012.

MAIA, E. C. R.; BORSATTO, D.; MOREIRA, I.; SPACINO, K. R.; RODRIGUES, P. R. P.; GALINA, A. L. Study Of The Biodiesel B100 Oxidative Stability In Mixture With Antioxidants. **Fuel Processing Technology**, v. 92, n.1, p.1750-1755, 2011.

MAIA, G. A. R.; ANTUNES, S. R. M.; WEIRICH-NETO, P. H.; BORBA, S.; COPPO, R. L.; BORSATO, D. Optimisation Of The Alcoholic Fermentation Of Aqueous Jerivá Pulp Extract. **Acta Scientiarum Technology**, v.36, n.4, p.699-705, 2014.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas**. Londrina: ABRATES, 2015, 660p.

MATOS, L. A. C. **Estudo da Corrosão de Ligas Ferrosas em Diesel e Biodiesel**. 2013. 114p. Dissertação (Mestrado em Bioenergia) – Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná, Guarapuava, PR.

MEDEIROS, R. A. **Desenvolvimento de Procedimentos Eletroanalíticos para a Determinação de Antioxidantes e Corantes em Produtos Alimentícios Empregando um Eletrodo de Diamante Dopado com Boro**. 2011. 155p. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

MENEGHETTI, S. M. P.; MENEGHETTI, M. R.; BRITO, Y. C. A Reação de Transesterificação, Algumas Aplicações e Obtenção de Biodiesel. **Rev. Virtual de Quim.**, v.5, n.1, p.63-73, Jan. 2013.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Soja. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/soja>>. Acesso em: 31 jan. 2016.

NASCIMENTO, R. J.; ARAÚJO, C. R.; MELO, E. A. Atividade Antioxidante de Extratos de Resíduo Agroindustrial de Goiaba (*Psidium guajava* L.). **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.21, n.2, p.209-216, Jun. 2010.

ÖZENER, O.; YÜKSEK, L.; ERGENÇ, A. T.; ÖZKAN, M. Effects of Soybean Biodiesel on a DI Diesel Engine Performance, Emission and Combustion Characteristics. **Fuel**, v.115, p.875-883, 2014.

PINTO, A. C.; GUARIEIRO, L. L. N.; REZENDE, M. J. C.; RIBEIRO, N. M.; TORRES, E. A.; LOPES, W. A.; PEREIRA, P. A. P.; ANDRADE, J. B. Biodiesel: An Overview. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.16, n.6B, p. 1313-1330, 2005.

PORTAL BRASIL. **Conselho autoriza Aumento do Percentual de Biodiesel em Combustíveis.** Disponível em: < <http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2015/10/conselho-autoriza-aumento-do-percentual-de-biodiesel-em-combustiveis>>. Acesso em: 31 jan.2016.

PORTARIA SVS/MS Nº540 de 27 de Outubro de 1997. Ministério da Saude, Secretaria de Vigilância Sanitária. Aditivos Alimentares – Definições, Classificação e Emprego, 1997.

PRETO, N. A. E. **Avaliação da Influência de Antioxidantes na Estabilização de Biodiesel.** 2012. 58p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Instituto Superior de Engenharia do Porto, Porto, PT.

PRÝMA, J.; EHRENBERGEROVÁ, J.; BELCREDIOVÁ, N.; VACULOVÁ, K. Tocol Content in Barley. *Acta Chim. Slov.* v.54, p.102-105, 2007.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes Utilizados em Óleos, Gorduras e Alimentos Gordurosos. **Química Nova**, v.29, n.4, p.755-760, 2006.

RESOLUÇÃO DE DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº.23, de 15 de Fevereiro de 2005. Uso de Aditivos Alimentares, Estabelecendo suas Funções e seus Limites Máximos para a Categoria de Alimentos Óleos e Gorduras - Subcategoria Creme Vegetal e Margarinas, 2005.

ROSA, C. B. S.; BORSATO, D.; BUZATO, J. B.; CELLIGOI, M. A. P. C. Naringinase de *Aspergillus niger*: Otimização da produção por metodologia de superfície de resposta e uso do ultrassom para extração. **Semina**, Londrina, v.32, n.3, p.1049-1058, jul/set. 2011.

SETA BIOFUEL TESTING. **Biofuel Specifications.** Disponível em: < <http://www.biofueltesting.com/specifications.asp>>. Acesso em: 02 Fev. 2016.

SILVA, P. R. F.; FREITAS, T. F. S. Biodiesel: o Ônus e o Bônus de Produzir Combustível. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.3, p.843-851, Jun 2008.

SMITH, E.; DENT, G. **Modern Raman Spectroscopy – A Practical Approach.** John Wiley & Sons, Ltd., 2005. 210p.

SOARES, S. E. Ácidos Fenólicos como Antioxidantes. **Revista Nutrição**, Campinas, v.15, n.1, p.71-81, Abr. 2002.

SUINOCULTURA. **Bagaco de Cevada na Alimentação Animal**. Disponível em: <<https://pt.engormix.com/MA-suinocultura/nutricao/artigos/bagaco-cevada-alimentacao-animal-t2001/141-p0.htm>>. Acesso em: 02 Fev 2016.

VIOMAR, A. **Estudo das Variáveis da Produção de Biodiesel**. 2013. 78p. Dissertação (Mestrado em Bioenergia) – Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná, Guarapuava, PR.

VOLLHARDT, K. P. C.; SCHORE, N. E. **Química Orgânica: Estrutura e Função**. Porto Alegre: Bookman, 2004. 1112p.

YAAKOB, Z.; NARAYANAN, B. N.; PADIKKAPARAMBIL, S.; UNNI K. S.; AKBAR P, M. A Review on the Oxidation Stability of Biodiesel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.35, p.136-153, 2014.