



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

THALES CÉSAR XAVIER HILÁRIO

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE BIO-ÓLEO DE ESTERCO EM
MISTURA DE ÉSTERES METÍLICOS DE ÁCIDOS GRAXOS
PRODUZIDOS A PARTIR DE ÓLEO DE SOJA**

***ANTIOXIDANT ACTIVITY OF CATTLE MANURE BIO-OIL IN A
MIXTURE OF FATTY ACID METHYL ESTERS PRODUCED FROM
SOYBEAN OIL***





**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

THALES CÉSAR XAVIER HILÁRIO

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE BIO-ÓLEO DE ESTERCO EM
MISTURA DE ÉSTERES METÍLICOS DE ÁCIDOS GRAXOS
PRODUZIDOS A PARTIR DE ÓLEO DE SOJA**

Exame de Dissertação de Mestrado
apresentado ao Programa de Pós-
Graduação em Química, da
Universidade Federal de Sergipe, para
a obtenção do título de Mestre em
Química.

Orientador: Prof. Dr. Alberto Wisniewski Júnior

***ANTIOXIDANT ACTIVITY OF CATTLE MANURE BIO-OIL IN A
MIXTURE OF FATTY ACID METHYL ESTERS PRODUCED FROM
SOYBEAN OIL***

*Master's defense exam presented to
the Post-Graduate Program in
Chemistry, at the Federal University of
Sergipe, to obtain the title of Master in
Chemistry.*



**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

Hilário, Thales César Xavier
H641a

Atividade antioxidante de bio-óleo de esterco em mistura de ésteres metílicos de ácidos graxos produzidos a partir de óleo de soja / Thale César Xavier Hilário ; orientador Alberto Wisniewski Júnior - São Cristóvão, 2022.
73 f. : il.

Dissertação (mestrado em Química) – Universidade Federal de Sergipe, 2022.

1. Química. 2. Biodiesel. 3. Antioxidantes. 4. Oxidação 5. Fenóis. Júnior, Alberto Wisniewski orient. II. Título.

CDU 54

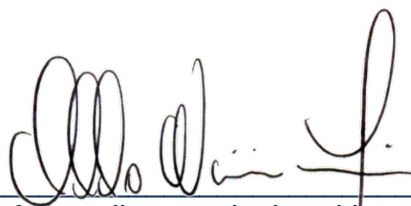


SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
Programa de Pós-Graduação em Química
PPGQ



FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Dissertação de Mestrado de Thales César Xavier Hilário apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Sergipe em 27/01/2022.



Prof. Dr. Alberto Wisniewski Junior
Departamento de Química - UFS



Prof.ª Dr.ª Luciane Pimenta Cruz Romão
Departamento de Química - UFS



Prof. Dr. Jandyson Machado Santos
Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE

RESUMO

Biodiesel é um biocombustível composto por uma mistura de diferentes ésteres de ácidos graxos, oriundos de determinada matéria-prima. Ésteres com cadeias carbônicas insaturadas são susceptíveis a oxidação, pela formação e estabilização de radicais na posição alílica, gerando produtos de oxidação como, peróxidos e hidroperóxidos. O biodiesel de soja é composto por ésteres de ácidos graxos insaturados em abundância, como o do ácido linoleico ($C_{18:2}$) e do ácido oleico ($C_{18:1}$). Neste trabalho, foi avaliado o potencial antioxidante do bio-óleo oriundo da pirólise de esterco bovino, frente a uma mistura de ésteres de ácidos graxos produzidos a partir de óleo de soja (FAMES). Inicialmente um aditivo concentrado composto por bio-óleo+FAMES (BOE) foi preparado e caracterizado através de FT-Orbitrap MS. Para a avaliação do potencial antioxidante foram realizados experimentos de oxidações aceleradas do FAMES bruto, FAMES com antioxidante industrial (hidroxitolueno butilado-BHT) e FAMES com o aditivo BOE. As concentrações dos aditivos utilizados foram baseadas nos teores de fenóis equivalente determinados pelo método de Folin-Ciocalteu, onde obteve-se uma relação de concentrações de $1000\text{ }\mu\text{g g}^{-1}$ de BHT para $5700\text{ }\mu\text{g g}^{-1}$ de aditivo BOE. O teste de capacidade antioxidante (DPPH) revelou que a concentração equivalente a $1000\text{ }\mu\text{g g}^{-1}$ de BHT somente é obtida empregando $6568\text{ }\mu\text{g g}^{-1}$ de aditivo BOE. O monitoramento da oxidação foi realizado através do teor de ésteres por GC-FID. Esse teor foi utilizado para a avaliação do consumo dos ésteres $C_{18:2}$ e $C_{18:1}$ durante o decorrer do teste de oxidação. O aditivo BOE apresentou inibição da oxidação intermediária entre o BHT e o FAMES controle nas primeiras 6 h de oxidação, mostrando-se ineficiente após este tempo. O monitoramento dos produtos de oxidação foi realizado por FT-Orbitrap-MS, onde foi possível identificar compostos resultantes da oxidação primária e secundária dos ésteres $C_{18:2}$ e $C_{18:1}$ nas amostras oxidadas.

Palavras-chave: biodiesel, antioxidante, oxidação, bio-óleo, compostos fenólicos, estabilidade oxidativa.

ABSTRACT

Biodiesel is a biofuel composed of a mixture of different fatty acid esters, derived from a certain raw material. Esters with unsaturated carbon chains are susceptible to oxidation, due to the formation and stabilization of radicals in the allylic position, generating oxidation products such as peroxides and hydroperoxides. Biodiesel prepared from soybean oil is mainly composed by unsaturated fatty acid esters, such as linoleic acid ($C_{18:2}$) and oleic acid ($C_{18:1}$). In this work, we evaluated the antioxidant potential of cattle manure bio-oil against a mixture of fatty acid esters produced from soybean oil (FAMES). Initially, a concentrated additive was prepared with bio-oil+FAMES (BOE) and it was characterized using FT-Orbitrap MS. For the evaluation of the antioxidant potential, experiments of accelerated oxidation were carried out with raw FAMES, FAMES with industrial antioxidant (butylated hydroxytoluene-BHT) and FAMES with the additive BOE. The concentrations of the additives used were based on the equivalent phenol contents determined by the Folin-Ciocalteu method, where a concentration ratio of $1000\ \mu\text{g g}^{-1}$ of BHT to $5700\ \mu\text{g g}^{-1}$ of BOE additive was obtained. The antioxidant capacity test (DPPH) revealed that the concentration equivalent to $1000\ \mu\text{g g}^{-1}$ of BHT is only obtained using $6568\ \mu\text{g g}^{-1}$ of BOE additive. The monitoring of oxidation was carried out through the content of esters by GC-FID. This content was used to evaluate the consumption of $C_{18:2}$ and $C_{18:1}$ esters during the oxidation test. The BOE additive showed inhibition of intermediate oxidation between BHT and FAMES control in the first 6 h of oxidation, being ineffective after this time. The monitoring of oxidation products was performed by FT-Orbitrap-MS, where it was possible to identify compounds resulting from the primary and secondary oxidation of the $C_{18:2}$ and $C_{18:1}$ esters in the oxidized samples.

Keywords: *biodiesel, antioxidant, accelerated oxidation, bio-oil, phenolic compounds.*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Gráfico da produção de derivados de petróleo. Fonte: ANP, 2019 [4] -----	1
Figura 2 – Gráfico de matérias-primas na produção do biodiesel no Brasil de 2010 a 2019. Fonte: ANP, 2019 [4]. -----	2
Figura 3 – Reação de transesterificação de síntese do biodiesel. Fonte: Autor. -----	4
Figura 4 – Mecanismo de oxidação aeróbica do C18:2 e do C18:1. Fonte: YUDAEV <i>et al.</i> , 2019 [24] -----	7
Figura 5 – Mecanismo de ressonância de estabilização de compostos fenólicos. Fonte: Autor. -----	10
Figura 6 – Estrutura do BHA, estrutura do BHT e estrutura do TBHQ. Fonte: Varatharajan <i>et al.</i> , 2018 [27]. -----	11
Figura 7 – Histograma de classes químicas do bio-óleo de esterco bovino. Fonte: SANTANA, 2017 [32]. -----	13
Figura 8 – Reação do ácido gálico com o molibdênio, composto presente no reagente de Folin-Cicalteau. Fonte: Autor. --	14
Figura 9 – Reação de inibição do DPPH. Fonte: Autor. -----	15
Figura 10 – Sistema para oxidação acelerada do biodiesel Fonte: Autor. -----	22
Figura 11 – Coloração da FAMES. Fonte: Autor. -----	23
Figura 12 – Cromatograma da FAME. Fonte: Autor. -----	25
Figura 13 – Espectro de massas da FAMES em ESI(+).-----	26
Figura 14 – Espectro de massas do aditivo BOE em ESI(-).-----	27
Figura 15 – Comparativo entre os compostos presentes no aditivo vs bio-óleo. -----	28
Figura 16 – Diagrama de classe de compostos oxigenados no bio-óleo e aditivo. -----	29
Figura 17 – Diagrama de contorno para a classe O3. -----	30
Figura 18 – Diagrama de contorno para a classe O4. -----	31
Figura 19 – Curva de comparação do período de oxidação com relação ao teor de ésteres da FAMES puras e com aditivo BOE A 5700 µg g ⁻¹ . -----	37

Figura 20 – Curva de comparação da oxidação das FAMES aditivadas com concentrações de fenóis equivalentes. -----	38
Figura 21 – Curva de comparação das amostras FAMES no teste de estabilidade oxidativa. -----	39
Figura 22 – Curvas de comparação da razão entre os ésteres C18:2 e C18:1. -----	4
Figura 23 – Gráfico de área do consumo do C18:2 em relação ao C18:1. -----	42
Figura 24 – Espectro da FAMES bruta oxidada em 3, 6, 9 e 12 horas. ---	43
Figura 25 – Espectro da FAMES + BHT oxidada em 3, 6, 9 e 12 horas. -	45
Figura 26 – Espectro da FAMES + aditivo BOE oxidada em 3, 6, 9 e 12 horas. -----	46
Figura 27 – Comparação da região dos espectros das amostras FAMES oxidadas em 12 horas. -----	47
Figura 28 – Comparação da região m/z 400 a 800 da FAMES bruta oxidada. -----	48
Figura 29 – Comparação da região m/z 400 a 800 da FAMES + BHT oxidada. -----	48
Figura 30 – Comparação da região m/z 400 a 800 da FAMES + aditivo BOE oxidada. -----	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estrutura e abundância dos ácidos graxos do óleo de soja. Fonte: ZHU <i>et al.</i> , 2016 [19] -----	5
Tabela 2 – Padrões de especificação e qualidade do biodiesel. Fonte: ANP, 2020 [20] -----	6
Tabela 3 – Etapas da oxidação dos ácidos graxos do biodiesel. Fonte: Pullen, 2012 [9] -----	8
Tabela 4 – Reação de ação antioxidante do fenol. Fonte: Chen <i>et al.</i> , 2019 [5]. -----	10
Tabela 5 – Teor de ésteres da FAMES bruta. -----	24
Tabela 6 – Teor de ésteres da FAMES com Aditivo BOE. -----	24
Tabela 7 – Teor de ésteres da FAMES com BHT. -----	24
Tabela 8 – Composição da FAMES de óleo de soja. -----	25
Tabela 9 – Teor de Fenóis das amostras antioxidantes. -----	32
Tabela 10 – Relação entre a concentração do aditivo BOE e sua inibição ao radical DPPH. -----	33
Tabela 11 – Relação entre a concentração do BHT e sua inibição ao radical DPPH. -----	33
Tabela 12 – Teor de ésteres das amostras de FAMES oxidadas. -----	34
Tabela 13 – Razão entre as áreas dos picos para os ésteres $C_{18:2}$ / $C_{18:1}$ durante o processo oxidativo. -----	40
Tabela 14 – Valores de m/z dos íons detectados para a oxidação do éster $C_{18:2}$. -----	51
Tabela 15 – Valores de m/z dos íons detectados para a oxidação do éster $C_{18:1}$. -----	53

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 – Equação de determinação da Atividade Antioxidante. ---- 15

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Biodiesel	3
1.1.1	Parâmetros de Qualidade do biodiesel.....	5
1.1.2	Mecanismo de oxidação do biodiesel.....	7
1.1.3	Aditivação antioxidante do biodiesel	9
1.2	Bio-óleos.....	11
1.2.1	Caracterização do bio-óleo por GC/MS.....	12
1.3	Quantificação dos compostos fenólicos.....	13
1.4	Capacidade antioxidante (radical DPPH)	14
1.5	Técnicas instrumentais em análises de Biodiesel.....	15
1.5.1	Cromatografia Gasosa (GC).....	15
1.5.2	Espectrometria de Massas - Orbitrap.....	16
2	OBJETIVOS	17
2.1	Objetivo Geral.....	17
2.2	Objetivos Específicos	17
3	MATERIAIS E MÉTODOS	18
3.1	Produção da mistura de ésteres metílicos de ácidos graxos - FAMES 18	
3.2	Teor de ésteres.....	19
3.3	Espectrometria de Massas com Transformada de Fourier FT- Orbitrap-MS.....	19
3.4	Bio-óleo de Esterco Bovino	20
3.5	Aditivo Antioxidante BOE.....	20
3.6	Teor de Fenóis.....	20
3.7	Capacidade antioxidante – Captura do radical DPPH	21
3.8	Estabilidade Oxidativa	21
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	23

4.1	Características das FAMES.....	23
4.1.1	Aspecto visual	23
4.1.2	Teor de ésteres da FAMES	23
4.1.3	Cromatograma da FAMES	24
4.1.4	Espectrometria de Massas	25
4.2	Caracterização do Aditivo BOE por FT-Orbitrap MS	26
4.3	Teor de Fenóis do Aditivo BOE	31
4.4	Capacidade antioxidante	32
4.5	Teor de ésteres da FAMES aditivadas	33
4.6	Relação das áreas dos ésteres C _{18:2} / C _{18:1}	38
4.7	Monitoramento dos produtos de oxidação por FT-Orbitrap MS das amostras aditivadas	41
4.7.1	Monitoramento dos produtos de oxidação no período de 3, 6, 9 e 12 horas para a FAMES pura.	42
4.7.2	Monitoramento dos produtos de oxidação no período de 3, 6, 9 e 12 horas para a FAMES + BHT.	43
4.7.3	Monitoramento dos produtos de oxidação no período de 3, 6, 9 e 12 horas para a FAMES + Aditivo BOE.	44
4.7.4	Monitoramento dos produtos de oxidação na região de m/z 400 a 800.....	46
4.8	Identificação dos produtos de oxidação.....	50
5	CONCLUSÕES	54
6	CRONOGRAMA.....	55
7	PERSPECTIVAS DO TRABALHO	56
8	REFERÊNCIAS.....	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANP –	Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
GC/MS –	Cromatografia Gasosa/Espectrometria de Massas
GC-FID –	Cromatografia a Gás com Detector de Ionização por Chama
FT-MS –	Espectrometria de Massas com Transformada de Fourier
ESI –	Ionização por Eletronebulização
DBE –	Duplas Ligações Equivalentes
BHT –	Hidroxitolueno butilado
BOE –	Aditivo contendo bio-óleo de esterco bovino
TBHQ –	Terc-butil hidroquinona
BHA –	Hidroxianisol butilado
FAMES –	Mistura de Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos
NO _x –	Óxidos de Nitrogênio
SO _x –	Óxidos de Enxofre
ABNT/NBR –	Associação Brasileira de Normas Técnicas
C _{18:1}	Éster: Oleato de metila
C _{18:2}	Éster: Linoleato de metila

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus por toda força, sabedoria e capacidade de realizar um grande trabalho.

Agradeço aos meus familiares e, principalmente, meus pais pelo grande incentivo nos estudos e por me fazerem sempre acreditar que essa é uma das melhores escolhas que podemos fazer para alcançar grandes conquistas, principalmente a minha mãe, Genieire. E agradeço também a minha irmã, Lorena, que sempre me dá todo apoio em todas as minhas escolhas da vida.

Agradeço a minha companheira Suellen por todo apoio e cuidado em e sempre estar comigo em todos os momentos.

Agradeço imensamente ao meu orientador Prof. Dr. Alberto Wisniewski Jr., por sempre acreditar na minha capacidade de realizar esse trabalho, além de me direcionar e contribuir sempre com seus ensinamentos para que eu pudesse concluir o trabalho da melhor forma possível.

Agradeço ao Grupo de Pesquisas em Petróleo e Energia da Biomassa (PEB) pelo sólido desenvolvimento nas pesquisas, agradeço aos seus integrantes por toda amizade que foi construída, além das contribuições e auxílios no desenvolvimento do trabalho, em especial ao Tarcísio Martins, Izabela Moraes e Josué Melo.

Agradeço ao Centro de Laboratórios de Química Multiusuários (CLQM) pela disponibilidade de equipamentos e materiais para a realização de análises do trabalho.

Agradeço aos professores da Universidade Federal de Sergipe e colegas de pós-graduação que contribuíram para toda a realização do trabalho.

Agradeço aos professores da banca de defesa da Dissertação, Profa. Dr. Luciane Romão e Prof. Dr. Jandyson Machado Santos.

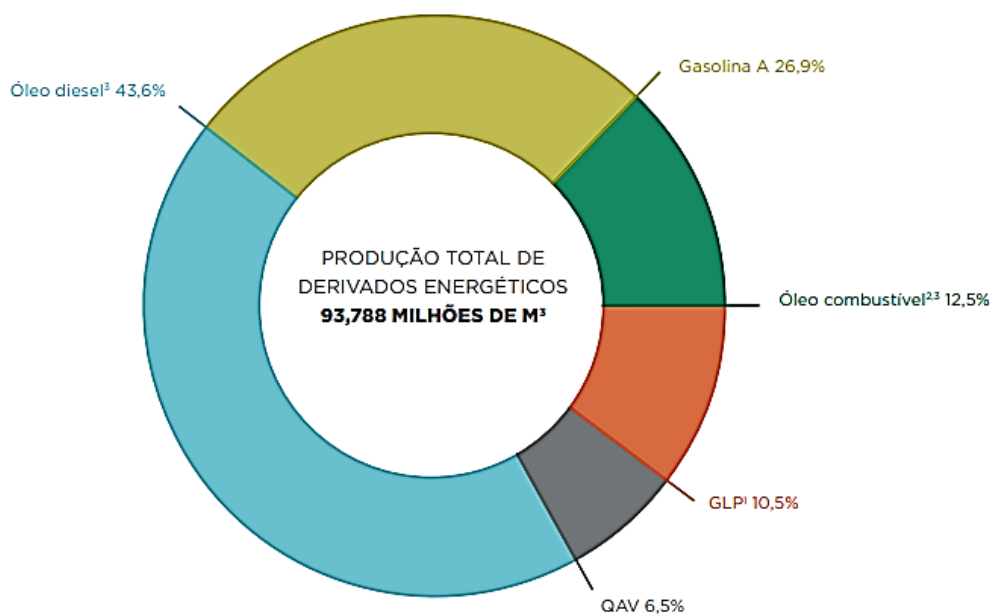
1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento da sociedade e o crescimento populacional dos últimos anos tem provocado alta necessidade energética provinda dos combustíveis fósseis, gerando problemas ambientais causados pelas emissões de gases poluentes [1,2]. São exemplos desses combustíveis o gás natural, carvão mineral, petróleo e seus derivados.

Derivado do petróleo, o diesel é amplamente utilizado por apresentar maior economia e melhor desempenho em veículos mais pesados, como os agrícolas e de transporte de passageiros, comparado a gasolina. Em contrapartida, sua emissão de gases poluentes, como os óxidos nitrogenados (NO_x) é maior [3].

No Brasil, em 2019, segundo a Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), o óleo diesel representou mais de 43% dos derivados do petróleo produzidos. O gráfico da figura 1 mostra os derivados de petróleo produzidos segundo dados de refinarias e centrais petroquímicas.

Figura 1: Gráfico percentual da produção de derivados de petróleo no Brasil em 2019.

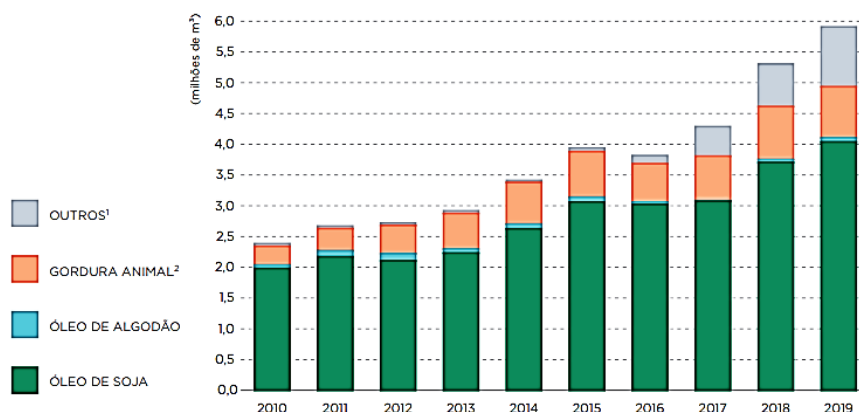


Fonte: ANP, 2019 [4]

Uma solução sustentável para substituir a utilização do diesel de petróleo é o biodiesel, um combustível renovável. Essa característica renovável torna sua combustão com menor potencial gerador de gases poluentes, além da ausência de enxofre, o que lhe faz apresentar uma emissão de óxidos de enxofre (SO_x) nula, comparado ao diesel de petróleo [5]. Misturas do biodiesel com o diesel fóssil são realizadas a fim de amenizar a poluição ocasionada por este, e estudos indicam que, quanto maior a presença de biodiesel na mistura com o diesel, menor a emissão de monóxido de carbono (CO). Isso é explicado pela maior concentração de átomos de oxigênio no biodiesel, que causa uma maior oxidação de carbonos presentes na estrutura do combustível, gerando uma combustão completa [6].

A produção do biodiesel advém de diferentes matérias-primas oleaginosas, como o óleo de algodão, de canola e de palma, além de gorduras animais. Dentre essas fontes, o óleo de soja é a mais utilizada mundialmente por ser facilmente produzida em diferentes regiões e pelo fato do biodiesel de soja apresentar características físico-químicas mais favoráveis, como maior conteúdo de oxigênio, tornando-o mais eficiente na combustão, e maior índice de cetano [7]. No Brasil, a soja é a mais utilizada na produção do biodiesel, devido ao grande cultivo e produção da oleaginosas. O gráfico da figura 2 traz a relação das principais fontes de matérias-primas utilizadas na produção do biodiesel no Brasil.

Figura 2: Matérias-primas utilizadas na produção do biodiesel no Brasil de 2010 a 2019.



Fonte: ANP, 2019 [4]

O principal problema na inserção do biodiesel está em sua fácil capacidade de oxidação. Comparando-o com o diesel de petróleo, ele apresenta menor resistência a degradação, o que ocasiona a formação de sedimentos, depósitos e compostos insolúveis. Estes prejudicam a funcionalidade do motor, podendo entupir as linhas e os filtros de combustíveis, reduzindo o desempenho de sua combustão [2,7,8].

A explicação da oxidação está na presença de ésteres de ácidos graxos insaturados em sua composição, e a posição dessas insaturações na cadeia carbônica interferem diretamente na estabilidade do produto. Os compostos poli-insaturados do biodiesel reagem facilmente com o oxigênio molecular, e essa reação resulta em compostos saturados mais estáveis, contudo mais prejudiciais para sua utilização [1,9,10].

A principal forma de retardo à oxidação é realizada com a adição de compostos antioxidantes [13]. Essas substâncias são capazes de reduzir a formação de radicais livres instáveis, formando produtos mais estáveis, retardando o ataque do oxigênio as moléculas insaturadas do biodiesel [14].

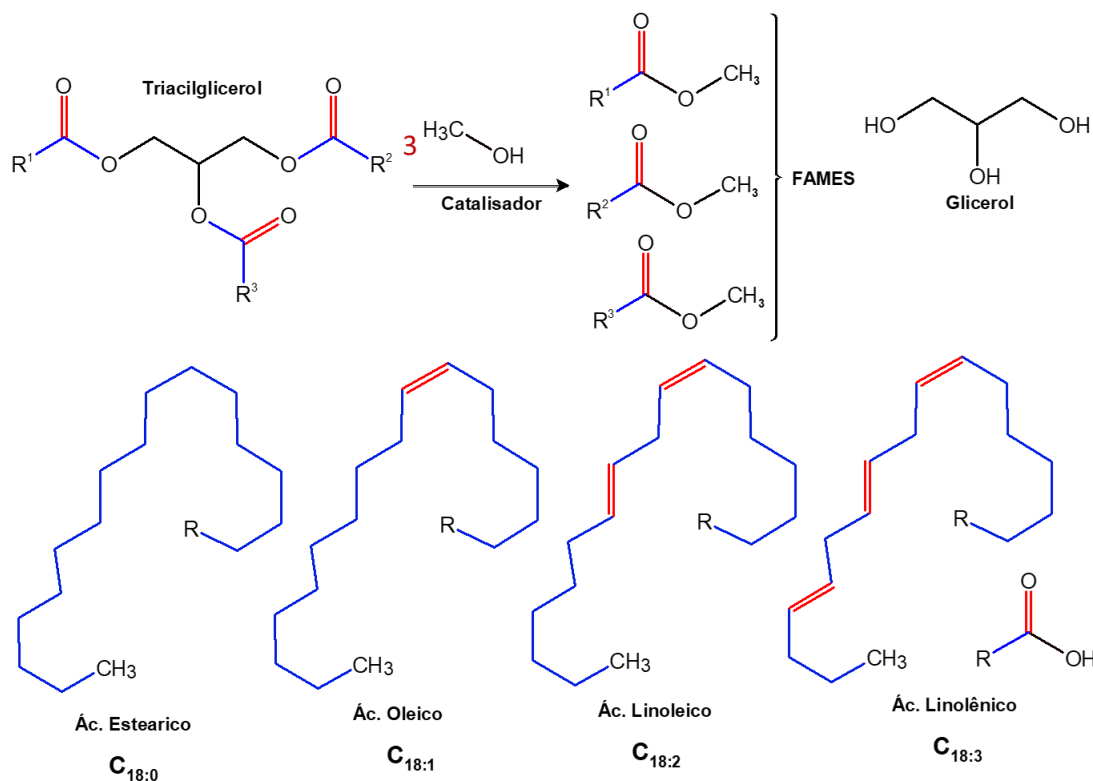
A eficiência desses antioxidantes é avaliada através da estabilidade oxidativa do biodiesel determinada através das normas regulamentadoras ASTM D6751 e EN 14112 [15].

1.1 Biodiesel

O biodiesel é um biocombustível oriundo de oleaginosas vegetais, como a soja, palma ou girassol, de gorduras animais ou do reaproveitamento de óleos de cozinha utilizados, reagindo-os com álcool e um catalisador. Quando utilizado o metanol, obtém-se o conteúdo FAME (do inglês *fatty acid methyl ester*) que são os ésteres metílicos de ácidos graxos [16].

A produção do biodiesel é realizada através de reações de esterificação ou de transesterificação, sendo essa última a mais utilizada por apresentar um menor custo e melhor rendimento, a qual tem o seu mecanismo demonstrado na Figura 3.

Figura 3: Reação de transesterificação do triacilglicerol na presença de álcool e catalisador para a síntese do biodiesel.



Fonte: Autor.

A equação química representada na figura 3 apresenta a reação de um mol de triacilglicerídeo com três mols de álcool na presença de um catalisador. Formando o glicerol e os ésteres de ácidos graxos (FAMES), que se atenderem todos os critérios de qualidade, a mistura passa a ser chamada de biodiesel [17].

É comumente adicionado um excesso de álcool na reação a fim de proporcionar um deslocamento na reação para a formação dos produtos, aumentando assim o seu rendimento. O tipo de álcool utilizado na transesterificação influencia diretamente na velocidade e na conversão desses produtos. A utilização do metanol ocasiona uma maior velocidade comparado ao etanol, pois ele é mais reativo que esse. Na purificação, o etanol dissolve mais facilmente o glicerol, subproduto formado na reação, provocando uma maior dificuldade de separação do biodiesel, gerando uma menor conversão [16,17].

O óleo de soja tem sua composição química apresentada na Tabela 1. Essa composição representa o conteúdo FAMES do biodiesel produzido.

Tabela 1: Estrutura e abundância dos ácidos graxos presentes no óleo de soja.

ÁCIDOS GRAXOS	ESTRUTURA	VALORES DE REFERÊNCIA (%)
Ácido Láurico	C _{12:0}	≤ 0,1
Ácido Mirístico	C _{14:0}	≤ 0,2
Ácido Palmítico	C _{16:0}	9,7 - 13,3
Ácido Palmitoleico	C _{16:1}	≤ 0,2
Ácido Esteárico	C _{18:0}	3,0 - 5,4
Ácido Oleico	C _{18:1}	17,7 - 28,5
Ácido Linoleico	C _{18:2}	49,8 - 57,1
Ácido Linolênico	C _{18:3}	5,5 - 9,5
Ácido Araquídico	C _{20:0}	0,1 - 0,6
Ácido Eicosenoico	C _{20:1}	≤ 0,3
Ácido Eicosadienoico	C _{20:2}	≤ 0,1
Ácido Behênico	C _{22:0}	0,3 - 0,7
Ácido Erúcico	C _{22:1}	≤ 0,3
Ácido Lignocérico	C _{24:0}	≤ 0,4

Fonte: ZHU *et al.* 2016 [20]

O óleo de soja apresenta em média 75% de ácidos insaturados, tendo alguns estudos indicados valores médios acima de 80%, como o estudo feito por Zhu (2015) em que foram determinados 83,73% de ésteres insaturados. O ácido linoleico compõe majoritariamente o óleo de soja, o qual será o principal FAME presente no respectivo biodiesel. Por ser um ácido graxo insaturado, ele justifica a exposição à oxidação do biodiesel de soja. A fim do monitoramento, esse composto será estudado nesse trabalho [20].

1.1.1 Parâmetros de Qualidade do biodiesel

O biodiesel é especificado através de normas regulamentadoras que determinam seus parâmetros de qualidade, sendo eles a Norma Europeia (EN 14214) e os Padrões Internacionais da ASTM, a ASTM D6751. No Brasil, a ANP rege a qualidade do combustível. A Tabela 2 mostra as principais especificações de qualidade do biodiesel.

Dentre os parâmetros, um destaque é o teor de ésteres referente aos compostos não convertidos nas reações de síntese e determinantes no rendimento da produção. A quantificação desses parâmetros ocorre através da

Cromatografia a Gás (CG), na qual, para o teor de ésteres é recomendado um valor mínimo de 96,5% [21].

Tabela 2: Padrões de especificação e qualidade do biodiesel segundo as normas internacionais e brasileira.

Especificação	Unidade	Método	ABNT NBR	Limite
Estabilidade oxidativa (a 100 °C)	<i>hora</i>	EN 14112	-	12
Teor de Éster	<i>% massa</i>	EN 15751 EN 14103	15764	96,5% mín.
Glicerol total	<i>% massa</i>	EN 14105	15344	0,25 máx.
Teor de Iodo	<i>g/100g</i>	EN14106 EN 14111	15908 -	120 máx.
Viscosidade	<i>mm² s⁻¹</i>	EN ISO 3104	10441	3,0 – 6,0
Índice de Acidez	<i>mg KOH g⁻¹</i>	EN 14104	14448	0,50 máx.
Teor de água	<i>mg kg⁻¹</i>	EN ISO 12937	-	200 máx.
Densidade (a 20 °C)	<i>kg m⁻³</i>	EN ISO 3675 EN ISO 12135	7148 14065	850 – 900

Fonte: ANP, 2020 [21]

A estabilidade oxidativa do biodiesel, regulamentada pelas normas ASTM D6751 e EN 14112, determina a sua resistência a oxidação. O principal método de determinação da estabilidade é através da norma EN 14112 a qual faz uso do Rancimat, onde é determinado o ponto de indução do biodiesel, em que a amostra recebe o constante fluxo de ar e com o alto aquecimento controlado [22]. Neste trabalho a determinação da estabilidade oxidativa foi monitorada empregando um protótipo que simula as condições operadas no método Rancimat.

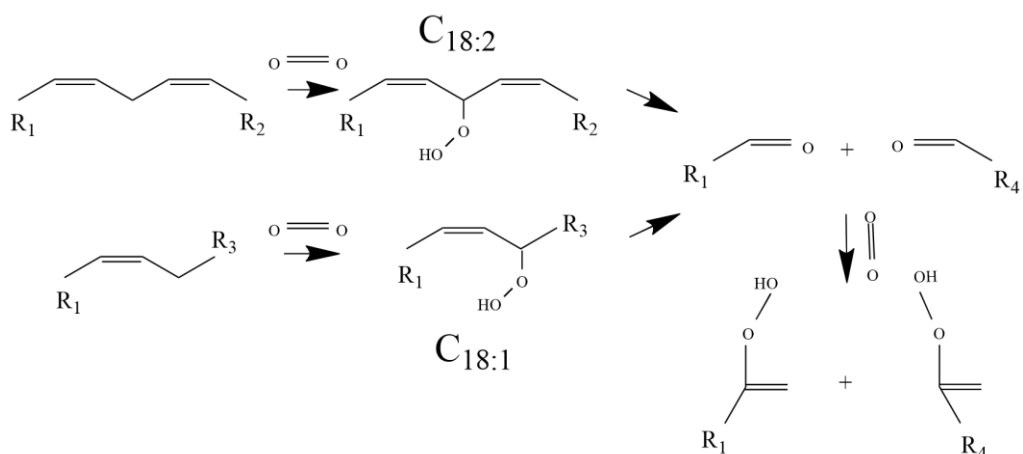
Na determinação da qualidade, a ANP publicou no dia 2 de agosto de 2019 a Resolução nº 798/2019 onde atualiza a especificação que diz respeito ao período de estabilidade oxidativa do biodiesel. Essa resolução altera a Resolução nº 45 de 25 de agosto de 2014, aumentando o período de estabilidade de 8 horas para 12 horas [21]. Com isso, no teste de estabilidade oxidativa, as amostras de biodiesel devem resistir a oxidação por um período de 12 horas.

1.1.2 Mecanismo de oxidação do biodiesel

A oxidação do biodiesel é um processo que ocorre devido a presença de ácidos graxos insaturados em sua composição. Ela depende da estrutura de cada componente, ou seja, de posições e de quantidade de insaturações existentes nas moléculas, relacionada a fonte de ácido graxos utilizada, como os ácidos oleico, linoleico e linolênico [22,23].

Yudaev, S. (2019) estudou essa oxidação utilizando matérias-primas diferentes, demonstrando que, em uma oxidação aeróbica, atua um mecanismo de reação em cadeia, onde o éster metílico do ácido linoleico ($C_{18:2}$) sofre uma maior oxidação comparado ao éster metílico do ácido oleico ($C_{18:1}$) [25]. A Figura 4 demonstra esse mecanismo de reação da oxidação aeróbica.

Figura 4: Mecanismo de oxidação aeróbica do $C_{18:2}$ e do $C_{18:1}$.



Fonte: YUDAEV *et al.* 2019 [25]

A reação de oxidação é formada em cadeias alílicas ($-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$), onde o carbono metilênico central, sofre o ataque do radical oxigênio, e assim se inicia uma propagação em cadeia. Nesse processo, são formados produtos como peróxidos, hidroperóxidos, ácidos orgânicos, álcoois, dentre outros [15]. O processo é dividido em partes, denominadas oxidação primária e oxidação secundária, assim, os primeiros produtos participam do início e do final do processo. Esse procedimento de oxidação pode ser detalhado através da iniciação, da propagação e do término apresentado na tabela 3 [8,25].

Tabela 3: Caracterização das etapas da oxidação dos ácidos graxos do biodiesel.

Reação	Equação Química	Característica
Início	(a) $RH + I \rightarrow IH + R^*$	Perda do átomo de hidrogênio do carbono do ácido e formação do radical
Propagação	(b) $R^* + O_2 \rightarrow ROO^*$	Reação do radical com o oxigênio molecular
	(c) $ROO^* + RH \rightarrow ROOH + R^*$	formando peróxidos e hidroperóxidos
Término	(d) $R^* + R^* \rightarrow R - R$	Radicais e peróxidos reagem formando compostos estáveis
	(e) $ROO^* + ROO^* \rightarrow \text{produtos estáveis}$	

Fonte: Pullen, 2012 [9].

Na iniciação (a), ocorre a formação de radicais formados pelos próprios ácidos graxos do biodiesel através da remoção do hidrogênio presente no carbono alílico dos ácidos graxos, onde será formado um novo radical desses ácidos.

Na propagação (b e c), o radical do ácido graxo formado reage com o oxigênio molecular presente onde serão formados os peróxidos. Esses compostos que, por serem muito reativos, acabam reagindo com os compostos ácidos do biodiesel, removendo hidrogênios e formando os hidroperóxidos dos ácidos graxos. Essa formação dos hidroperóxidos é a principal reação da oxidação do biodiesel, tornando-os os principais compostos da oxidação, sendo determinantes no ponto da oxidação do biodiesel [9].

No término (d e e), a reação chega ao final ao produzir compostos moleculares mais estáveis. Essa formação ocorre quando existe uma concentração de radicais suficientes para que estes reajam entre si e formem os compostos mais estáveis [9].

Após as etapas de oxidação, são formados os compostos finais que influenciam na acidez do biodiesel, como: os aldeídos, as cetonas e os ácidos graxos de cadeias curtas [9].

Com isso, o monitoramento da oxidação pode ser realizado por cromatografia gasosa com detector de ionização em chama, através da quantificação do $C_{18:2}$ e do $C_{18:1}$ durante o período de oxidação. Além dela, as identificações de compostos resultantes da oxidação podem ser realizadas

através da espectrometria de massas [27]. Dessa forma, é possível avaliar o efeito da oxidação através das variações nas cadeias dos ésteres de ácidos graxos que compõem o biodiesel [23].

1.1.3 Aditivação antioxidante do biodiesel

Os antioxidantes são compostos adicionados ao biodiesel para que ele se adeque a norma referente a estabilidade a oxidação. A ANP requisita um período mínimo de 12 horas de estabilidade do biodiesel na presença desses compostos.

Eles agem reagindo com os radicais livres presentes ou formados no biodiesel, impedindo a oxidação das cadeias de ácidos graxos insaturadas do mesmo. Sua adição ao biodiesel deve ocorrer assim que terminada a produção do biocombustível, para que ocorra uma eficácia instantânea. Para um bom antioxidante, além de apresentar uma capacidade de eliminar os radicais livres, ele não deve alterar as demais características do biodiesel [28].

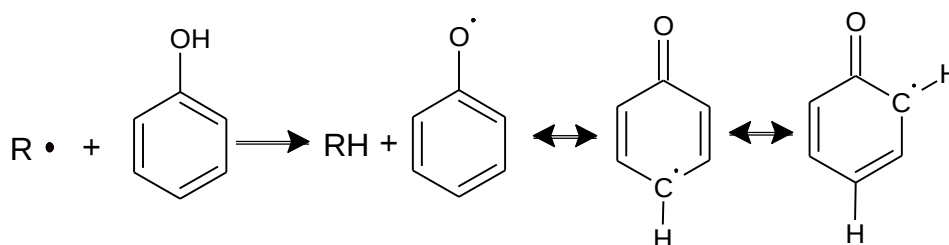
Em sua ação, os antioxidantes se classificam em terminadores de radicais livres, íons catalisadores e removedores de oxigênio. Os compostos fenólicos são conhecidos como terminadores de radicais livres. O seu mecanismo antioxidante no biodiesel ocorre em partes, onde os fenóis atacam o radical livre, que se inicia com a perda do hidrogênio da hidroxila (OH) do fenol (AH) que é doado ao radical peroxil (ROO^*), formado pelas cadeias dos ésteres de ácido graxo do biodiesel. Isso ocorre devido a ligação (H-O) ser quebrada facilmente formando um radical de hidrogênio livre (H^*). Esse hidrogênio é então doado ao radical, como mostrado na Tabela 4 em (1) e (2). Dessa forma, o radical peroxil da cadeia do biodiesel é impedido de oxidar. Na segunda parte, o radical fenólico (A^*) do antioxidante reage com o radical livre do biodiesel (ROO^*) estabilizando-o (RA). Como é possível ver na Tabela 4 em (3) e (4) [4,22].

Tabela 4: Reação de ação antioxidante do fenol.

Reação	Característica
$\text{ROO}^* + \text{AH} \rightarrow \text{ROOH} + \text{A}^* \text{ (1)}$ $\text{RO}^* + \text{AH} \rightarrow \text{ROH} + \text{A}^* \text{ (2)}$	Perda do hidrogênio da hidroxila do fenol e doação do hidrogênio ao radical peroxil
$\text{ROO}^* + \text{A}^* \rightarrow \text{ROOA} \text{ (3)}$ $\text{RO}^* + \text{A}^* \rightarrow \text{ROA} \text{ (4)}$	Reação do radical fenólico com o radical peroxil

Fonte: Chen *et al.* 2019 [5].

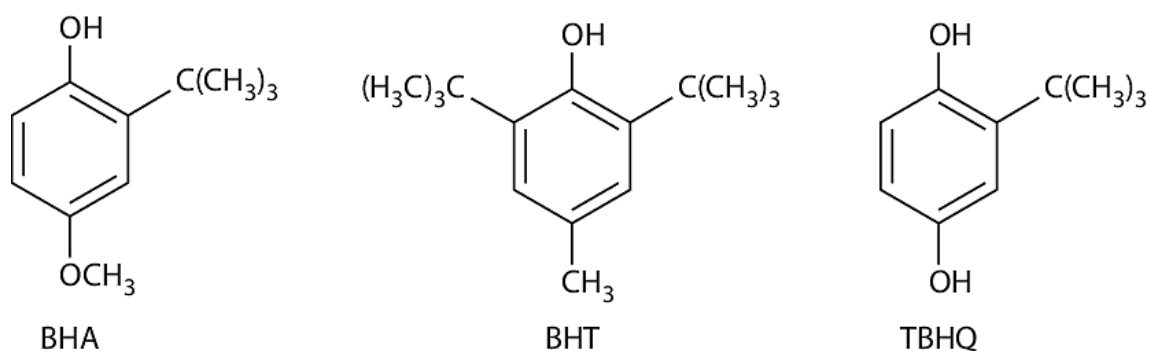
Essa reação justifica a eficiência dos compostos fenólicos na ação antioxidante, pois eles são bons doadores de hidrogênio e formam radicais intermediários estáveis, o que é explicado através das estruturas de ressonância formada. A estabilização do radical fenol formado, é realizada através da deslocalização dos elétrons π em seu anel aromático, como é mostrado na Figura 5.

Figura 5: Mecanismo de ressonância de estabilização de compostos fenólicos.

Fonte: Autor.

Os principais antioxidantes utilizados advêm de fontes industriais, e eles são comumente utilizados separadamente ou em misturas, a fim de se inibir as reações de oxidação do biodiesel [29]. Sua ampla utilização vem devido a sua grande eficácia em pequenas concentrações. Os principais antioxidantes utilizados no biodiesel são o hidroxitolueno butilado ou BHT, do inglês *butylated hydroxytoluene*, o hidroxianisol butilado ou BHA, do inglês *butylated hydroxyanisole* e o terc-butil-hidroquinona ou TBHQ, do inglês *tert-butylhydroquinone*. [1,29]. A Figura 6 apresenta a estrutura dos 3 principais antioxidantes industriais utilizados.

Figura 6: Estrutura do BHA, estrutura do BHT e estrutura do TBHQ.



Fonte: Varatharajan *et al.* 2018 [28].

A principal composição dos antioxidantes é dada pela presença de compostos fenólicos, que já possuem conhecida capacidade de retardar a oxidação das cadeias de ésteres de ácido graxo do biodiesel, através da quantidade de hidroxilas fenólicas presente no antioxidante [5].

Essa estrutura química presente nos antioxidantes justifica a crescente inserção de bio-óleos produzidos através da pirólise da biomassa lignocelulósica como aditivos antioxidantes no biodiesel, a qual existe o conhecimento de que esses compostos da biomassa apresentam uma grande quantidade de compostos fenólicos [31].

1.2 Bio-óleos

A pirólise é uma técnica de conversão rápida e eficiente para a produção de diferentes compostos, além de apresentar baixo custo e alta eficiência térmica. Ela se apresenta como fonte de bioprodutos, matéria-prima para indústria e utilização energética. E é através da técnica que é gerado o bio-óleo, formado por compostos orgânicos derivados de uma biomassa [32].

O bio-óleo gerado a partir da biomassa lignocelulósica apresenta grande potencial antioxidante, devido a degradação térmica da lignina gerar compostos fenólicos. Estudos realizados por Santana, 2019, demonstraram que o bio-óleo de esterco bovino obtidos entre 500 e 600 °C, apresentam entre 8 e 16% de compostos fenólicos, sendo esses os compostos de maior abundância nesse tipo de bio-óleo [33].

A lignina é um polímero tridimensional amorfo associada a fibras celulósicas, que confere rigidez à parede celular. Sua estrutura é altamente composta de polifenóis com uma matriz irregular. A partir dessa estrutura, a pirólise da biomassa lignocelulósica acarreta a decomposição da lignina levando a formação de diversos compostos fenólicos [34].

Além desses compostos, a pirólise dessa biomassa é capaz de produzir mais de 400 compostos, dentre ácidos orgânicos, aldeídos, cetonas, furanos e outros [12].

Frente a essa composição química da biomassa, o trabalho utilizará o bio-óleo de esterco bovino como proposta para a formulação de um aditivo antioxidante para o biodiesel.

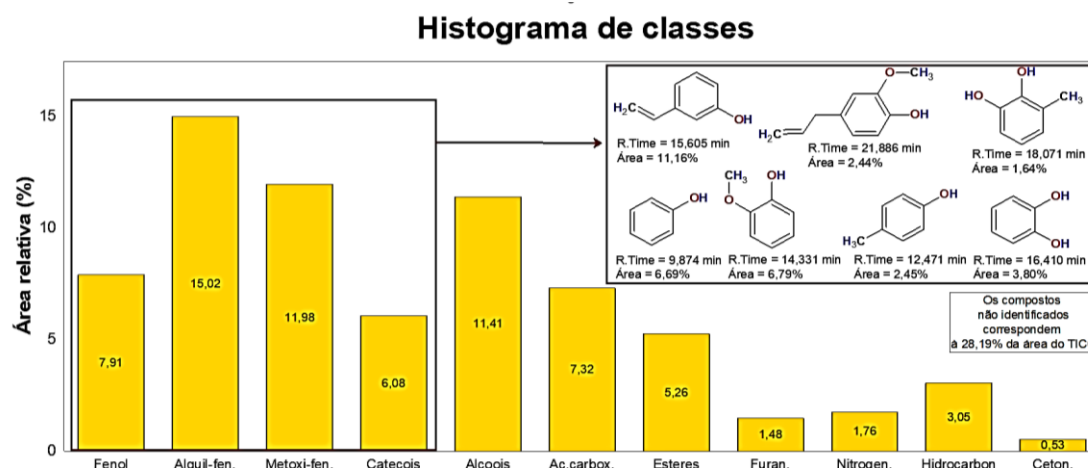
1.2.1 Caracterização do bio-óleo por GC/MS

A caracterização química de bio-óleos por Cromatografia a Gás/Espectrometria de Massas (GC/MS), permite identificar e quantificar compostos que possam ter ação antioxidante quando empregados como aditivo no biodiesel. O bio-óleo oriundo da pirólise da biomassa lignocelulósica, apresenta 3 categorias de classes de compostos derivados que são gerados a partir de sua decomposição, sendo elas: a celulose, a hemicelulose e a lignina, a qual foi discutida anteriormente pelo potencial antioxidante [34].

Dessa forma, estudos vêm sendo realizados sobre a caracterização de bio-óleos produzidos através da pirólise da biomassa, para a identificação, quantificação e extração desses compostos fenólicos [35].

A Figura 7 demonstra o histograma de classes do bio-óleo de esterco bovino trazendo seus compostos presentes obtido através das melhores condições por GC/MS.

Figura 7: Histograma de classes químicas do bio-óleo de esterco bovino.



Fonte: SANTANA, 2017 [33].

Nota-se a grande presença de compostos fenólicos no bio-óleo. Dentre eles os fenóis, alquil-fenóis, metoxi-fenóis e catecois. A grande presença dos metóxi-fenóis é destacada pela característica da biomassa apresentar um alto teor de lignina, a qual é conhecida por apresentar abundância dos compostos 2-metóxfenol e 2,6-dimetóxfenol em sua composição, confirmando o potencial antioxidante na biomassa lignocelulósica [33].

A pirólise da biomassa lignocelulósica resulta em variados compostos com diferentes abundâncias, as quais são alteradas através de variações nos parâmetros da pirólise, como a temperatura. Estudos mostram que a alteração na temperatura da pirólise da biomassa lignocelulósica, provoca alterações na abundância de ácidos carboxílicos e de fenóis. Dessa forma, a quantidade de compostos fenólicos obtidas no bio-óleo desse trabalho dependeu totalmente das condições da pirólise preestabelecidas [33].

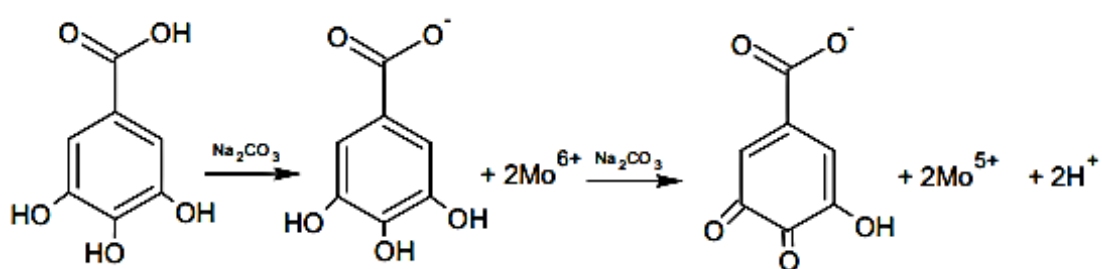
1.3 Quantificação dos compostos fenólicos

Vista a existência dos compostos fenólicos no bio-óleo de esterco bovino, a quantificação desses compostos permitirá obter os dados necessários para a avaliação antioxidante do aditivo a base da biomassa no biodiesel, através da prevenção da oxidação dos ésteres metílicos no teste de estabilidade oxidativa.

Essa quantificação será realizada através do método espectrofotométrico de redução com o reagente de Folin Ciocalteu. O reagente é composto pela

mistura dos ácidos fosfomolibdídico e fosfotungstístico, onde os compostos molibdênio e tungstênio apresentam número de oxidação 6^+ e, após o reagente ser misturado com as amostras, ocorre a redução desses compostos para um número de oxidação entre 5^+ , alterando a coloração da solução para azul. A figura 8 demonstra a reação de redução do molibdênio na presença do ácido gálico.

Figura 8: Reação do ácido gálico com o molibdênio, composto presente no reagente de Folin-Ciocalteu.

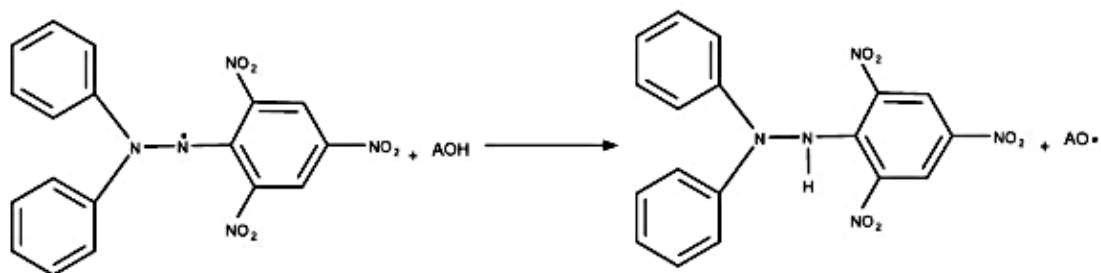


Fonte: Autor.

1.4 Capacidade antioxidante (radical DPPH)

A determinação da capacidade antioxidante é essencial para verificar a ação de uma substância frente a radicais livres inibindo a ação desses compostos. Esse é o método de quantificação utilizado com o radical DPPH através da espectrofotometria. O método é baseado na captura do radical por antioxidantes provocando a redução do composto acarretando em uma diminuição na absorbância da amostra [36]. A figura 9 traz a reação do DPPH com um antioxidante o que altera sua coloração, podendo assim ser quantificado através do valor de sua absorbância.

Figura 9: Reação de inibição do DPPH.



Fonte: Autor.

A atividade antioxidante (AA %) de uma amostra é determinada através do cálculo percentual de inibição dela sobre o radical DPPH, através das absorbâncias da amostra de trabalho ($A_{amostra}$), do branco (A_{branco}) e da amostra controle ($A_{controle}$) que é a absorbância da solução do reagente DPPH. A equação de atividade antioxidante se encontra na equação 1 [37].

Equação 1: Equação de determinação da Atividade Antioxidante.

$$AA (\%) = 100 - \left[\frac{(A_{amostra} - A_{branco}) * 100}{A_{controle}} \right]$$

Para os cálculos na análise é determinada concentração inibitória (IC_{50}), onde é determinada a mínima concentração necessária para inibir 50% de uma concentração de radical. Além desta, é também calculada a concentração de eficiência (EC_{50}), a qual determina a quantidade de antioxidante necessária para reduzir 50% da quantidade inicial de radical, que é calculada através da razão entre o valor de inibição e da concentração inicial do radical [38].

1.5 Técnicas instrumentais em análises de Biodiesel

1.5.1 Cromatografia a Gás (GC)

A ANP determina para a quantificação do teor de ésteres o cumprimento da norma europeia EN 14103, através do GC-FID. A técnica é uma das mais importantes no estudo da composição das substâncias, sendo uma ferramenta poderosa para a análise quantitativa e qualitativa dos compostos [21].

O detector FID apresenta uma capacidade de detectar uma gama de compostos de carbono com exceções, como o monóxido e dióxido de carbono, além de dissulfeto, formaldeído e ácido fórmico. Essa ampla detecção o torna eficaz na quantificação dos ésteres metílicos de ácidos graxos, FAMES, tanto em amostras puras quanto em amostras na presença de antioxidantes, além de amostras oxidadas [39].

Juliane, M. T. *et al.* (2018) utilizou a técnica para o monitoramento do biodiesel de soja no armazenamento de 0 a 360 dias em diferentes condições de estocagem, sendo possível quantificar o teor de ésteres por GC-FID e avaliar sua variação quanto a degradação de FAMES. Nesse estudo foi determinado um teor de ésteres de 44,90% para a amostra armazenada a 360 dias em recipiente de lata [40].

1.5.2 Espectrometria de Massas - Orbitrap

A caracterização do biodiesel e dos seus produtos de oxidação será realizada através da espectrometria de massas, pela técnica apresentar poderosa capacidade de identificação estrutural de moléculas e átomos. A espectrometria de massas já foi utilizada na caracterização de óleos vegetais, quando Wu *et al.* (2004) utilizou a técnica com ionização por eletronebulização (ESI) na identificação da composição química de óleo de canola, oliva e soja. Como a composição do óleo de soja e do biodiesel de soja apresentam semelhança estrutural, devido as cadeias graxas, a técnica se adequa a discriminação de íons de FAMES do biodiesel [41]. Além da caracterização do biodiesel, a técnica permite a identificação de íons resultantes da oxidação do FAMES após testes de estabilidade oxidativa. Kim J. *et al.*, (2018) estudou a identificação de reações resultante da oxidação do éster do ácido linoleico, o de maior abundância no biodiesel de soja, a 180 °C em 72 h através da técnica, identificando íons moleculares resultantes da polimerização do éster [42].

A fonte de ionização eletronebulização, é uma técnica útil para análise de moléculas como os ésteres de ácidos graxos presentes no biodiesel, de alta massa molecular e pouco voláteis. A técnica consiste na ionização do analito em solução a pressão atmosférica, sendo, após, os íons transferidos para a fase gasosa. Em ESI os íons formados dependem do processo de oxidação/redução,

protonação/desprotonação e a formação de adutos por coordenação de cátions, como Na^+ ou K^+ , ou ânions, como Cl^- . Através do balanço desses processos, serão formados os íons moleculares M^+/M^- , que formarão moléculas no formato $[\text{M}+\text{Na}]^+$, no caso de adutos de sódio ou $[\text{M}-\text{Cl}]^-$, no caso de adutos de cloro, dentre outros [43]. Wu *et al.* (2004) utilizou a técnica ESI no modo de íon negativo para a distinção dos componentes ácidos do óleo de soja, do óleo de canola e do óleo de oliva, de acordo com a abundância relativa dos ácidos graxos e em modo positivo para distinguir a composição de triacilgliceróis, de acordo com suas duplas ligações [41].

Já para a análise do aditivo, será utilizado o ESI negativo já que é uma técnica muito difundida em determinações de compostos presentes em bio-óleos, por apresentar uma maior facilidade de análise dos espectros de massas obtidos em comparação com outras técnicas. Isso é explicado pela presença de muitos compostos polares na decomposição da biomassa lignocelulósica, os quais podem ser facilmente desprotonados [34].

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliação da atividade do bio-óleo de esterco como um potencial aditivo antioxidante para biodiesel.

2.2 Objetivos Específicos

- Produção em laboratório de mistura de ésteres metílicos de ácidos graxos a partir de óleo de soja (FAMES);
- Determinação do teor de ésteres do FAMES por GC-FID;
- Produção do aditivo BOE composto de FAMES e bio-óleo de esterco bovino;
- Determinação do teor de fenóis do aditivo, bio-óleo e BHT através do método Folin-Ciocalteu;

- Determinação da capacidade antioxidante através do método de captura do radical DPPH;
- Caracterização do aditivo BOE para identificação de potenciais antioxidantes por ESI-MS em modo negativo;
- Realização de experimentos de oxidação acelerada das amostras de FAMES puro, FAMES com BHT e FAMES com aditivo BOE durante um período de 12 horas em concentrações de 1000 e de 3000 $\mu\text{g g}^{-1}$;
- Quantificação do teor de ésteres de todas as amostras oxidadas desde 1 hora até as 12 horas de oxidação por GC-FID.
- Identificação dos produtos de oxidação nas amostras de FAMES puras, FAMES + BHT e FAMES + aditivo BOE por ESI-MS em modo positivo.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Produção da mistura de ésteres metílicos de ácidos graxos - FAMES

A produção do FAMES foi realizada através da transesterificação pela rota metílica. A reação foi realizada na proporção 1:6 de óleo/álcool (v/v) e com 1% em massa de catalisador KOH. O óleo de soja foi submetido a um pré-aquecimento de 80 °C e depois, acrescido o metóxido de potássio, formado pela reação do metanol junto ao KOH como catalisador.

Foi realizada a reação de formação do metóxido de potássio, através da dissolução do KOH em metanol. Após foram medidos 500 gramas de óleo de soja e adicionado a ele a solução de metanol e catalisador. A reação ocorreu sob agitação em temperatura de 60 °C, onde a mesma transcorreu pelo período de 1 h, devido a reação de transesterificação ser imediata, mas para uma maior conversão dos ésteres, o período é suficiente. Após o tempo, foi realizada a separação do biodiesel do glicerol através da decantação. A FAMES resultante foi lavada com água e ácido sulfúrico para neutralização da amostra, devido ao excesso de KOH residual e depois levado a um rotaevaporador para eliminação

do excesso de metanol ainda presente. Após isso, ela foi secada com a utilização do Na_2SO_4 anidro e armazenada em local protegido da luz [43,44].

3.2 Teor de ésteres

O teor de ésteres metílicos foi determinado como recomendado pela Norma NBR15764, através de um cromatógrafo gasoso com detector de ionização de chama (GC-FID). O sistema utilizado para a determinação do teor de ésteres foi o GC-FID da Shimadzu - Quioto, Japão), modelo GC-QP 2010. A programação da temperatura do forno foi de 50 °C (2 min), rampa de 15 °C min⁻¹ até 280 °C (11 min). A coluna utilizada foi uma RTX-5 Sil (5% difenil, 95% dimetil polissiloxano) com 30 m, 0,25 mm DI, 0,25 µm. A temperatura do injetor foi de 280 °C (25 min) em modo *split* (1:50) e injeção de 1,0 µL de cada solução de amostra de biodiesel, empregando ar 5.0 como gás de arraste a um fluxo constante de 1,0 mL min⁻¹. A temperatura do detector foi de 320 °C, utilizando uma proporção de N₂:H₂:Ar sintético de 30:40:400 mL min⁻¹, respectivamente.

A quantificação ocorreu através da calibração externa com a construção de uma curva analítica, que foi preparada a partir de uma solução estoque na concentração de 50 mg mL⁻¹ do padrão oleato de metila (C_{18:1}). Assim, foram preparadas cinco soluções nas concentrações de 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0 mg mL⁻¹, empregando *n*-heptano como solvente, da marca J.T. Baker, com pureza de 99%. A determinação do teor de ésteres do biodiesel ocorreu a partir da quantificação no ponto médio da curva.

3.3 Espectrometria de Massas com Transformada de Fourier FT-Orbitrap-MS

Para caracterizar a FAMES e o aditivo BOE produzido, foi realizada a análise através espectrometria de massas com Transformada de Fourier através da ionização por eletronebulização. A caracterização foi executada em um espectrômetro de massas Q Exactive, da Thermo Scientific (Bremen, Germany) utilizando ESI operando no modo de íons negativo para as amostras do aditivo, para a identificação dos compostos fenólicos e em modo positivo para as amostras de biodiesel, com a finalidade de avaliar a degradação dos ésteres. As

amostras foram injetadas por infusão direta, em um fluxo de 20 $\mu\text{L min}^{-1}$, dissolvidas numa mistura de tolueno:metanol (1:1 v/v) produzindo uma solução de 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os dados de ESI-FT-MS foram coletados utilizando as seguintes condições: voltagem do capilar a $\pm 4,0$ kV, RF da S-Lens a 80 e temperatura do capilar a 320 °C. O nitrogênio foi utilizado como gás nebulizador. A aquisição do espectro de massas foi operada no modo *full scan* com resolução de 140.000 *full width at half maximum (FWHM)* a m/z 200 e num range de 100-1000 Da, utilizando o software Xcalibur 3.0, e um total de 100 μscan foi acumulado em cada análise.

3.4 Bio-óleo de Esterco Bovino

O bio-óleo foi preparado em trabalho anterior através da pirólise da biomassa de esterco bovino [46].

3.5 Aditivo Antioxidante BOE

O aditivo antioxidante BOE foi preparado através da solubilização do bio-óleo de esterco bovino na FAMES. Para isso, 1 g de bio-óleo foram adicionados a 10 g de FAMES em um recipiente de 50 mL, o qual foi levado ao banho ultrassônico a uma temperatura de 60 °C por um tempo de 45 minutos. Nesse procedimento, houve a solubilização de grande parte do bio-óleo, apresentando uma dispersão turva. Após esse procedimento, foi realizada a centrifugação da mistura, onde foi possível observar a decantação da região insolúvel do bio-óleo no fundo do recipiente e, estando acima, a FAMES solubilizada no bio-óleo, separando a mistura ao final. Esse sobrenadante é o aditivo BOE que será avaliado quanto a sua eficiência como antioxidante nas amostras de FAMES.

3.6 Teor de Fenóis

O teor de fenóis do aditivo antioxidante foi determinado através do método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, no equipamento de marca SHIMADZU, modelo: UV-1800. Para análise, inicialmente, foi preparada a curva de calibração do ácido gálico partindo de uma solução estoque de concentração de 1000 μg

mL^{-1} , diluindo-o para concentrações de 100 a 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. As amostras foram preparadas com a adição de 100 μL do aditivo transferidos para balões de 5 mL, adicionando 1 mL de água destilada, em seguida 0,2 mL do reagente Folin-Ciocalteu e, por fim, 0,6 mL de solução NaCO_3 (20%), completando-se o volume com a água destilada e o branco preparado com todos reagentes exceto os aditivos. A análise foi realizada em comprimento de onda de 765 nm [47].

O cálculo do teor foi determinado através da interpolação da absorbância das amostras com a curva de calibração, obtendo resultados expressos em equivalência de ácido gálico.

3.7 Capacidade antioxidante – Captura do radical DPPH

A atividade antioxidante pelo método DPPH foi determinada através da espectrofotometria UV/VIS no equipamento de marca SHIMADZU, modelo: UV-1800. Onde foi preparada uma solução 0,1 mmol L^{-1} do reagente DPPH em metanol. A partir daí foi preparada uma curva de calibração com as amostras trabalhadas utilizando concentrações de 1, 2, 3, 4, e 5 mg mL^{-1} . Após o preparo, foram adicionados 1 mL de cada ponto da curva das amostras e 3 mL da amostra de DPPH em um balão de 10 mL, completando-se o volume com metanol, formando assim a curva de calibração das amostras e sendo a solução do DPPH dissolvida em metanol a amostra controle. As análises foram realizadas em comprimento de onda de 515 nm. A atividade antioxidante foi determinada através da equação 1, sendo após construída a curva com os valores de inibição e concentração. Através da curva foi determinada a concentração mínima necessária para inibir 50% do radical DPPH [48].

3.8 Estabilidade Oxidativa

O teste de estabilidade oxidativa é realizado no biodiesel para a determinação do período de indução, o qual é o período em que o biocombustível resiste a oxidação. Esse procedimento é determinado pela Norma Europeia EN14112 e sua operacionalização é através do equipamento automático denominado Rancimat®. O equipamento é composto de recipientes, os quais são aquecidos e recebem um fluxo de ar. O ar presente nas amostras é levado

até um outro recipiente onde existe a presença de água e de uma célula de condutividade. O ar carregando produtos de degradação da amostra que chegam até a água alteram sua condutividade e, assim, esta é medida a partir do ar percolado em cada amostra oxidada. Dessa forma, é determinado o ponto de indução das amostras.

Para a oxidação das amostras nesse trabalho, foi utilizado um sistema que simula em todas as condições o Rancimat[®]. O protótipo foi montado com a utilização de um recipiente com suporte para as amostras. Estas foram aquecidas através do banho de glicerol. As amostras foram oxidadas em frascos de 40 mL, os quais estavam equipados com uma tampa com orifícios para a entrada e saída do fluxo de ar de 10 L h⁻¹. O sistema foi montado sobre uma chapa aquecedora em temperatura de 110 °C, com agitador magnético, a fim de proporcionar um aquecimento homogêneo em todas as regiões do recipiente, como pode ser observado na Figura 10.

Figura 10: Sistema de oxidação acelerada do biodiesel com inserção de fluxo de ar e aquecimento.



Fonte: Autor.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Características das FAMES

4.1.1 *Aspecto visual dos ésteres metílicos de ácidos graxos após a produção*

A determinação de aspecto e cor visual do FAMES foi verificada de acordo com a presença de impurezas suspensas ou decantadas e através de sua coloração característica.

Figura 11. Coloração do FAMES após produção.



Fonte: Autor.

4.1.2 *Teor de ésteres da FAMES através da Cromatografia a Gás com detector de Ionização em Chama (GC/FID).*

O teor de ésteres foi quantificado através da curva de calibração com o oleato de metila como padrão, através do ponto médio da curva. A FAMES produzida apresentou um teor de ésteres metílico com valor igual a 97,1%. Esse resultado indica que a FAMES se encontrava dentro do parâmetro recomendado referente ao teor de ésteres para biodiesel, podendo ser avaliado quanto a sua estabilidade oxidativa na presença de aditivos antioxidantes.

Tabela 5: Teor de ésteres das FAMES pura e na presença dos antioxidantes.

Amostra	Teor de éster (média n=3)	Desvio padrão
FAMES pura	97,12	0,50
FAMES com aditivo BOE	97,91	0,46
FAMES com BHT	97,78	0,25

4.1.3 Cromatograma da FAMES através da Cromatografia a Gás com detector de Ionização em Chama (GC/FID).

A identificação dos picos da FAMES e de suas intensidades foi realizada através da cromatografia, utilizando o pico referente ao éster do ácido linoleico ($C_{18:2}$), que é o que apresentou maior abundância, e sendo o principal éster insaturado da FAMES. Além dele, a tabela 8 demonstra os outros ésteres identificados na FAMES, tendo um destaque também, para o éster oleato de metila ($C_{18:1}$) sendo o segundo mais abundante e insaturado.

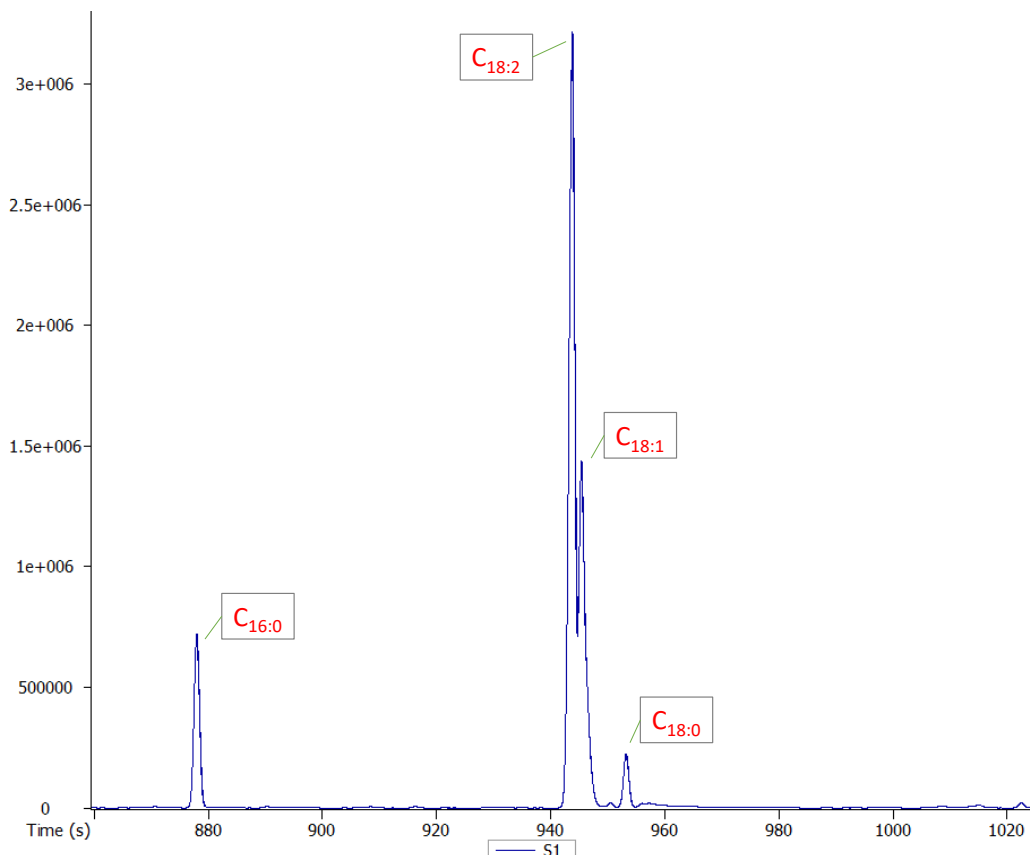
Figura 12: Cromatograma da FAMES para identificação de seus ésteres metílicos.

Tabela 6: Composição da FAMES de óleo de soja.

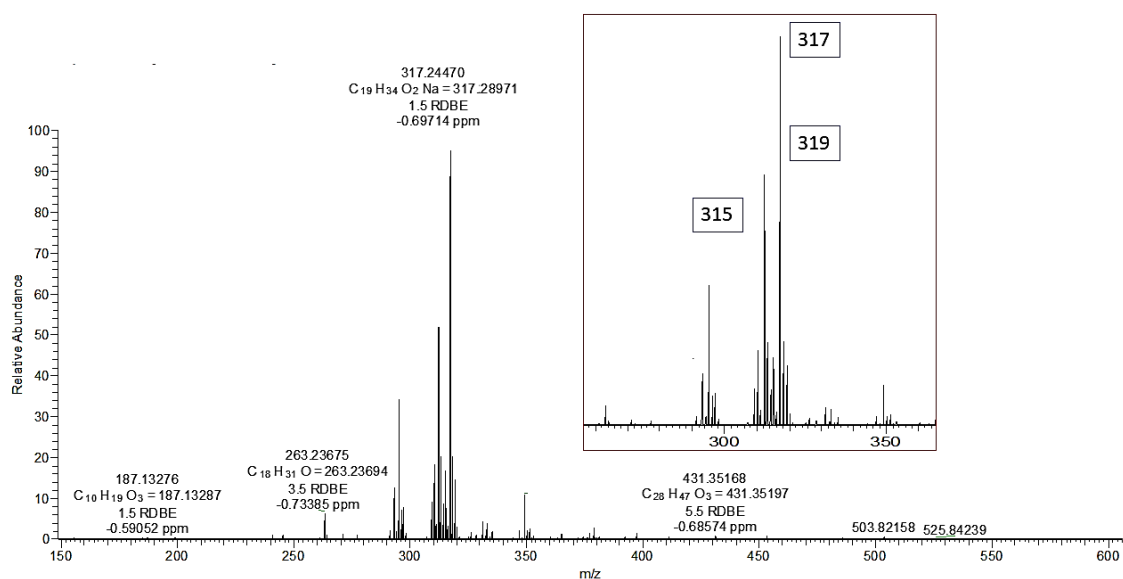
Cadeia	RT (min)	Área	Área relativa (%)
C _{14:0}	870,67	799998	0,11
C _{16:1}	890,23	1165340	0,16
C _{16:0}	878,00	83191327	11,26
C _{17:1}	916,36	697912	0,09
C _{18:3}	916,36	697912	0,09
C _{18:2}	943,82	391803471	53,01
C _{18:1}	945,41	204919593	27,73
C _{18:0}	953,23	24453037	3,31
C _{20:1}	957,30	7197272	0,97
C _{20:0}	1008,36	2129650	0,29
C _{22:0}	1014,99	3130937	0,42
C _{24:0}	1086,67	3087306	0,42
Total		723273755	100,00

4.1.4 Caracterização da FAMES produzida através da Espectrometria de Massas.

Para melhor caracterização da FAMES e identificação dos ésteres majoritários foi realizada a espectrometria de massas com o auxílio do Exactive Plus Orbitrap MS com transformada de Fourier.

Os espectros de massa da FAMES foram obtidos através da fonte de ionização por eletronebulização (ESI), no modo positivo ESI(+) [49].

A Figura 13 demonstra o espectro de massas ESI(+)-FT Orbitrap da amostra de FAMES de soja.

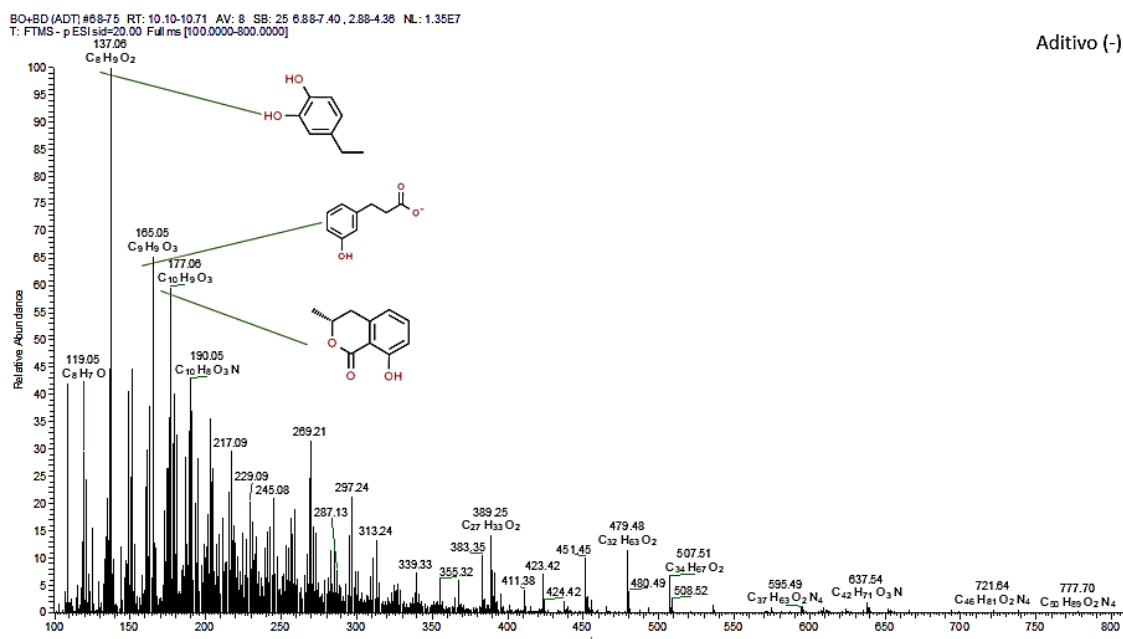
Figura 13: Espectro de massas da FAMES em ESI(+).

O espectro da FAMES produzida apresentou compostos com uma relação massa/carga próxima a 300. Os íons foram identificados no modo positivo através de adutos de sódio o que revelou pico com maior abundância relativa referente ao composto de fórmula $C_{19}H_{34}O_2$, identificado como o éster do ácido linoleico ($C_{18:2}$), com uma massa/carga de aproximadamente 317, além do íon 315 identificado como o linolenato de metila e o íon 319, oleato de metila.

Estudos realizados por Eberlin *et al.* (2009) e Godoy (2013) identificaram espectros referentes aos principais ésteres do biodiesel de soja em razões massa/carga 315, 317 e 319 também referentes aos ésteres dos ácidos linolênico, linoleico e oleico, respectivamente para o modo positivo, através dos íons referentes aos adutos de sódio $[M+Na]^+$ [41–43].

4.2 Caracterização do Aditivo BOE por FT-Orbitrap MS

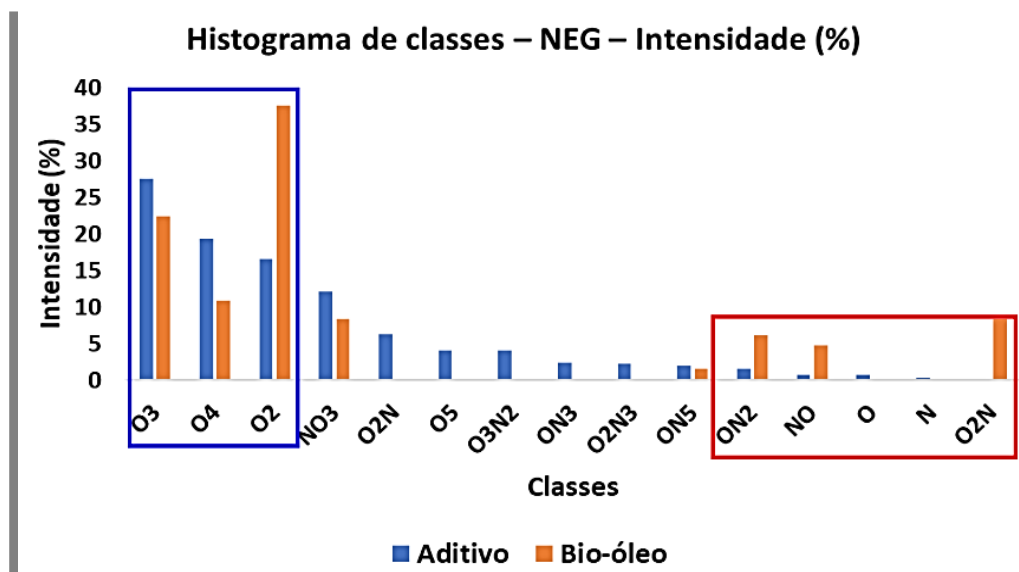
A caracterização do aditivo BOE pela espectrometria de massas permitiu determinar os compostos do bio-óleo que se solubilizaram na FAMES, e assim determinar os compostos que poderiam apresentar ação antioxidante. A Figura 14 traz o espectro do aditivo BOE obtido no Orbitrap em fonte de ionização por eletronebulização (ESI) em modo negativo.

Figura 14: Espectro de massas do aditivo BOE em ESI(-).

Os espectros foram obtidos em ESI modo negativo, pois a técnica nesse modo permite determinar com maior sensibilidade os compostos fenólicos. Junto aos compostos fenólicos, também é possível verificar a abundância de ácidos carboxílicos, pois estes apresentam grupos carboxilas, consequentemente hidroxilas, as quais podem ser desprotonadas [52].

No espectro obtido foi encontrado em maior abundância o pico referente ao fenol $C_8H_{10}O_2$. Entre 100 e 200 Da é possível encontrar diferentes compostos com as maiores abundâncias no aditivo BOE, dentre esses compostos são encontrados diferentes fenóis, como os que apresentam fórmula molecular $C_{10}H_8O_3$ e o $C_{10}H_9O_3$. Diante disso, diversos compostos que são detectados e identificados no espectro apresentam grande complexidade, como já é conhecido em bio-óleos produzidos através da pirólise da biomassa. Assim, é necessário programas para que se consigam organizar os compostos detectados e assim ser possível construir um histograma de classes. Foi utilizado o software PetroMS, resultando na elaboração de gráficos de contorno (DBE vs número de carbono) e histograma de classes. Este último mostra, de modo geral, a distribuição dos compostos presentes na amostra por classes químicas, o qual está representado na Figura 15.

Figura 15. Comparativo entre os compostos de classes nitrogenadas e oxigenadas presentes no aditivo vs bio-óleo.



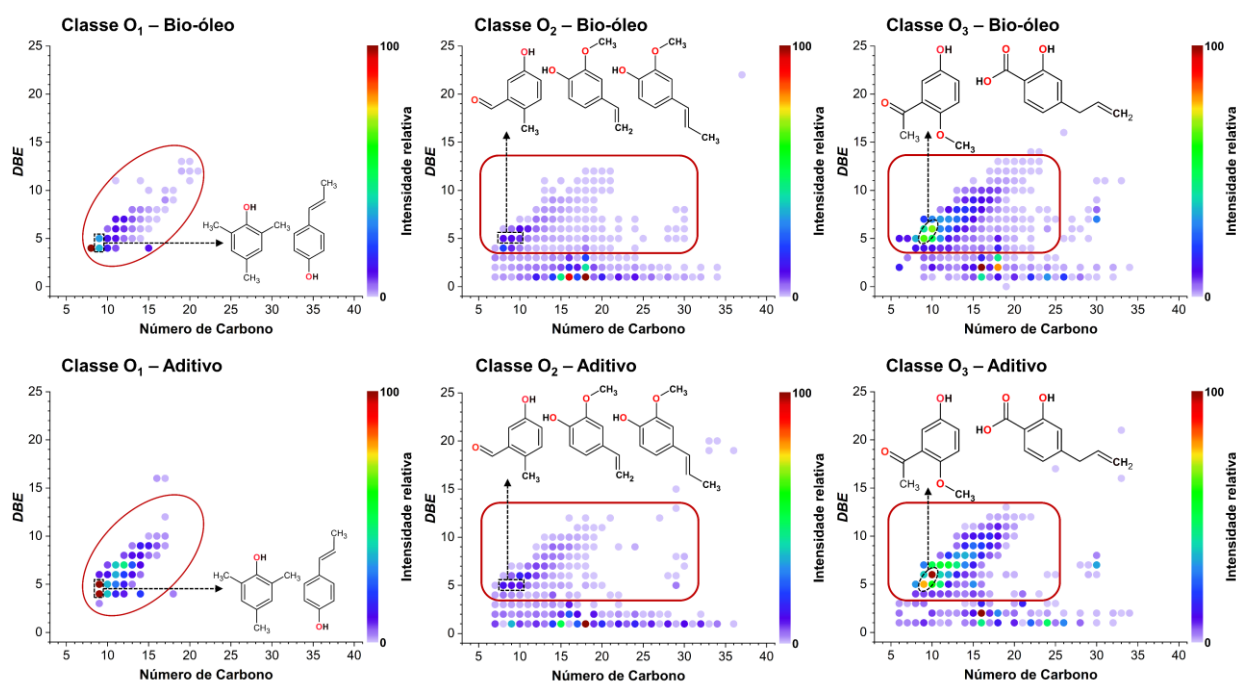
O histograma nos mostra que os compostos oxigenados e nitrogenados são majoritários no bio-óleo e no aditivo BOE. No bio-óleo, o destaque é para a grande intensidade de compostos oxigenados, como os das classes O₂, O₃ e O₄, indicando, além da presença dos ésteres de ácidos graxos, a presença também de compostos fenólicos no aditivo após a solubilização do bio-óleo no biodiesel.

A alta resolução do Orbitrap nos permite avaliar os compostos presentes no aditivo BOE através das duplas ligações equivalentes. A partir daí, são montados gráficos que relacionam a DBE com o número de carbono para avaliar a composição de cada classe de heteroátomos separadamente.

A Figura 16 apresenta os compostos identificados que estão presentes no aditivo BOE (a) e no bio-óleo (b), através da relação de DBE. Para o aditivo BOE, foram encontrados os compostos em uma faixa de 10-20 carbonos e DBE entre 4 e 15. Já para o bio-óleo foram identificados compostos que estão presentes na faixa de 5 a 40 átomos de carbono e DBE entre 1 e 10, com ênfase para os compostos de DBE menor que 4. Os compostos contendo DBE menor que 4 e presentes na classe O₂ no modo negativo do ESI são comumente atribuídos aos compostos do tipo ácidos graxos livres, como por exemplo o C_{18:1} (DBE = 2) e C_{18:2} (DBE = 3). Já os compostos da classe O₂ presentes no aditivo possuem valores de DBE maiores que 4, indicando a grande presença de compostos

fenólicos, devido a esse DBE indicar a existência de um composto aromático. Estudos indicam diferentes classes de compostos fenólicos em O_2 em bio-óleos da pirólise da biomassa lignocelulósica. M. Stals *et al.* (2017) identificou guaiacol e metilguaiacol através da análise ESI em modo negativo da lignina de abeto (madeira macia) [39,40].

Figura 16. Diagrama de classes de compostos oxigenados (O_1 , O_2 e O_3) de acordo com o equivalente de duplas ligações (DBE) presentes no bio-óleo e no aditivo BOE.



Foi possível identificar compostos fenólicos de maiores intensidades relativas através da relação de DBE entre o aditivo e o bio-óleo. Esses compostos foram identificados em ambas as amostras o que indica que foi possível a dissolução deles do bio-óleo na FAMES para o preparo do aditivo.

Quando comparadas as moléculas presentes no bio-óleo, foi detectada uma diminuição no número de moléculas presentes no aditivo para os compostos das classes O_3 e O_4 , onde é possível verificar nas Figuras 17 e 18. Deste modo, plotados os diagramas de contorno para elucidar a composição química molecular dos componentes dessas classes, foi observado que a perda

observada pelo histograma poderia ser atribuída aos compostos contendo número de carbono menor que 10 e DBE menor que 5, como mostram os diagramas de contorno para as classes O_3 e O_4 , Figuras 17 e 18, respectivamente.

Figura 17. Diagrama de classe do composto oxigenado O_3 de acordo com o equivalente de duplas ligações (DBE) presentes no bio-óleo e no aditivo.

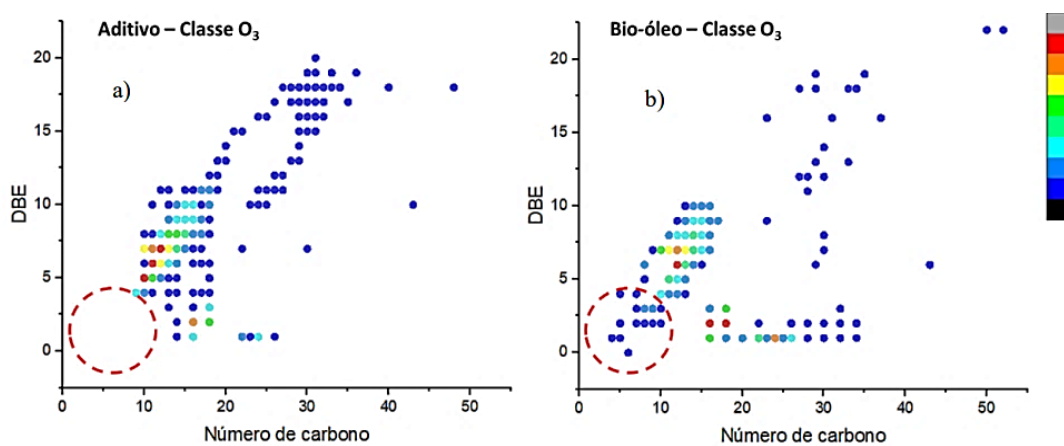
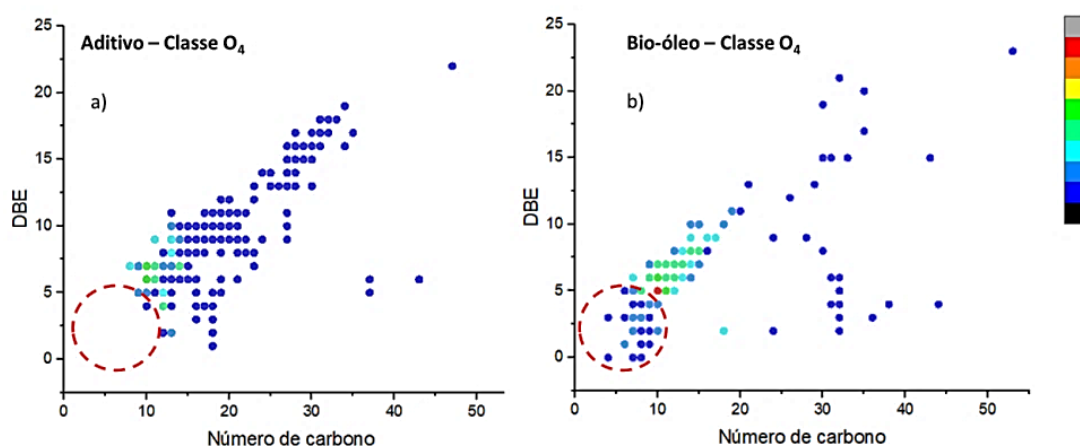


Figura 18. Diagrama de classe do composto oxigenado O_4 de acordo com o equivalente de duplas ligações (DBE) presentes no bio-óleo e no aditivo..



Uma provável explicação para o que foi observado é que tais compostos

apresentam uma polaridade muito superior à observada para a FAMES, uma vez que são compostos contendo de 3 a 4 átomos de oxigênio e contidos em estruturas com número de carbono inferior à 10. Além disso, são ionizáveis no modo negativo, conhecido por detectar compostos ácidos. De maneira contrária, os compostos com DBE maior que 5 e número de carbono superior à 10 foram solubilizados na FAMES para dar origem ao aditivo BOE. Tais compostos também podem ser associados às estruturas de polifenóis, e assim, utilizados como antioxidante. A identificação desses compostos solubilizados no aditivo é importante para demonstrar a complexidade da amostra que será utilizada como antioxidante no biodiesel, pois ela não apresenta total pureza de compostos fenólicos o que é importante para realizar as adaptações necessárias para haja uma melhor avaliação do potencial antioxidante.

4.3 Fenóis Totais das amostras antioxidantes através da espectrofotometria.

O teor de fenóis determinado através da espectrofotometria UV-VIS foi realizado para as amostras de bio-óleo bruto, do aditivo BOE (9,1%) e do BHT a fim de se obter a comparação entre os três principais objetos de estudo para a avaliação da atividade antioxidante. Os resultados da análise das amostras em 5 mg mL⁻¹ de metanol, encontra-se na tabela 9.

Tabela 7: Teor de Fenóis das amostras antioxidantes.

Amostra (5 mg mL⁻¹)	mg EAG g⁻¹ (média n=3)
Bio-óleo	152,1
Aditivo BOE	38,7
BHT	222,1

O metanol, que foi o solvente utilizado no preparo das amostras foi eficiente na quantificação dos compostos, obtendo-se soluções límpidas e com resultados confiáveis. Os resultados indicam uma maior quantidade de compostos para o antioxidante industrial BHT como já conhecido nos estudos.

O bio-óleo apresentou menor teor de fenóis em comparação ao BHT, o que é justificado pela presença de diferentes classes de compostos nessa biomassa.

O aditivo BOE, constituído pela dissolução do bio-óleo no biodiesel apresentou o teor de compostos fenólicos que solubilizaram no biodiesel. Essa quantidade representou cerca de 25% de compostos fenólicos solubilizados. Com essa quantidade solubilizada, é possível comparar os compostos fenólicos dissolvidos no aditivo BOE e no BHT. O resultado indica a existência de cerca de 5,7 vezes mais compostos fenólicos no BHT em relação aos compostos fenólicos no aditivo BOE, determinando assim a variável necessária para a inserção do aditivo BOE no biodiesel e comparação dele com o BHT no teste de estabilidade oxidativa e realiza-la com concentrações equivalentes de 1000 $\mu\text{g g}^{-1}$ para o BHT e 5700 $\mu\text{g g}^{-1}$ para o aditivo BOE.

4.4 Capacidade antioxidante através da captura do radical DPPH

O teste de capacidade antioxidante realizado pelo método da captura do radical DPPH através da espectrofotometria UV-VIS permitiu avaliar diretamente a capacidade de inibição do radical DPPH pelo aditivo BOE e assim compará-lo com o aditivo BHT.

As amostras apresentaram colorações desde violeta clara, para a menos concentrada, até um amarelo claro, para as amostras mais concentradas. Essa alteração de cor do violeta para o amarelo é característica da reação pela inibição dos compostos antioxidantes presentes nas amostra ao radical DPPH através da doação de hidrogênio para estabilização desse radical [55].

A tabela 10 traz os resultados de inibição (%) para as concentrações determinadas para a amostra do aditivo.

Tabela 8: Relação entre a concentração do aditivo BOE e do BHT, e a inibição ao radical DPPH.

Concentração (mg mL ⁻¹)	Inibição (%)	
	Aditivo BOE	BHT
1	11,1	94,61
2	26,1	95,77
3	40,0	96,54
4	58,5	97,31
5	69,9	98,46

A curva do aditivo BOE construída com pontos de 1 a 5 mg mL⁻¹, apresentou resultados de inibição do radical DPPH de 11 a 69%. Dessa forma, a quantidade mínima do aditivo para inibir 50% de 0,1 mmol de DPPH é igual a 3,59 mg mL⁻¹. Para comparar o potencial do aditivo BOE, foi construída a curva para a análise do antioxidante BHT. Os resultados de inibição do BHT seguem na tabela 11.

Os resultados indicam que 1 mg mL⁻¹ de BHT já é suficiente para inibir cerca de 95% de 0,1 mmol de DPPH, o que mostra sua grande eficácia no combate aos radicais livres. Dessa forma, a concentração equivalente do aditivo BOE para 1 mg mL⁻¹ ou 1000 µg g⁻¹ de BHT é igual a 6,568 mg mL⁻¹ ou 6568 µg g⁻¹.

4.5 Teor de ésteres da FAMES aditivadas através da Cromatografia a Gás com detector de ionização em chama (GC-FID).

A oxidação acelerada da FAMES, sem aditivo e com os antioxidantes foram realizadas na concentração equivalente para os aditivos BHT e BOE. Resultante do teor de fenóis, determinado pelo Teste de Folin-Ciocalteu, as amostras de biodiesel foram oxidadas com concentração de 1000 µg g⁻¹ para o BHT e de 5700 µg g⁻¹ para o BOE, a fim de obter uma equivalência nos valores de fenóis. A oxidação acelerada das amostras provocou alterações nos teores de ésteres de ambas amostras, conforme apresentado na Tabela 12. O sistema utilizado para a oxidação acelerada utilizou parâmetros semelhantes ao Rancimat®, da norma EN14112, método utilizado para determinar a estabilidade oxidativa, que pode ser realizado com temperaturas entre 110, 120 ou 140 °C.

No sistema, a temperatura utilizada foi a de 110 °C. Estudos mostram que até a uma temperatura de 100 °C o biodiesel apresenta pouca formação de hidroperóxidos no início de sua degradação. Contudo, temperaturas acima desta mostraram maior formação dos radicais dos ácidos graxos e aumento no número de hidroperóxidos [45].

Tabela 9: Teor de ésteres das amostras de FAMES oxidadas durante o período de 12 horas.

Tempo (h)	FAMES	FAMES + BHT	FAMES + BOE
0	97,1	97,8	96,9
1	94,5	96,3	96,3
2	86,9	90,6	93,0
3	88,0	88,0	91,1
4	83,8	79,1	75,5
5	64,6	84,2	74,6
6	53,8	80,0	60,2
7	57,6	76,6	74,8
8	66,0	60,3	54,2
9	48,8	58,7	39,5
10	44,5	45,2	43,8
11	37,8	52,9	38,0
12	54,0	41,9	37,7

A primeira hora de oxidação apresentou proximidade com o teor das amostras iniciais, o que indica pouca degradação dos ésteres nas condições impostas.

Durante o decorrer do teste de estabilidade oxidativa, o teor de ésteres apresentou oscilações que não justificam a oxidação. Essas oscilações são decorrentes de pequenas variações no fluxo de ar no sistema de oxidação.

A principal oxidação ocorre através do éster derivado do ácido linoleico, por ser o mais insaturado e abundante na FAMES de soja. Em estudo realizado por J.C. Ball (2019), foi comprovado que ésteres saturados levam um maior tempo para serem degradados em uma oxidação acelerada. Esse estudo foi baseado na análise do éster estearato de metila em comparação a outros ésteres [54].

O BHT com concentração de 1000 $\mu\text{g g}^{-1}$ foi eficiente no retardo a redução do teor de ésteres da FAMES em comparação com a amostra sem antioxidantes.

Entretanto, no período de 12 horas, o antioxidante não sustentou o teor de ésteres determinado pela ANP como forma de garantia da estabilidade. Testes de estabilidade oxidativa na presença do antioxidante industrial nessa mesma concentração utilizada, realizados através do Rancimat, apresentaram um período de indução de 4,88 minutos, também abaixo do limite pré-determinado nesse método que é de 6 horas [15].

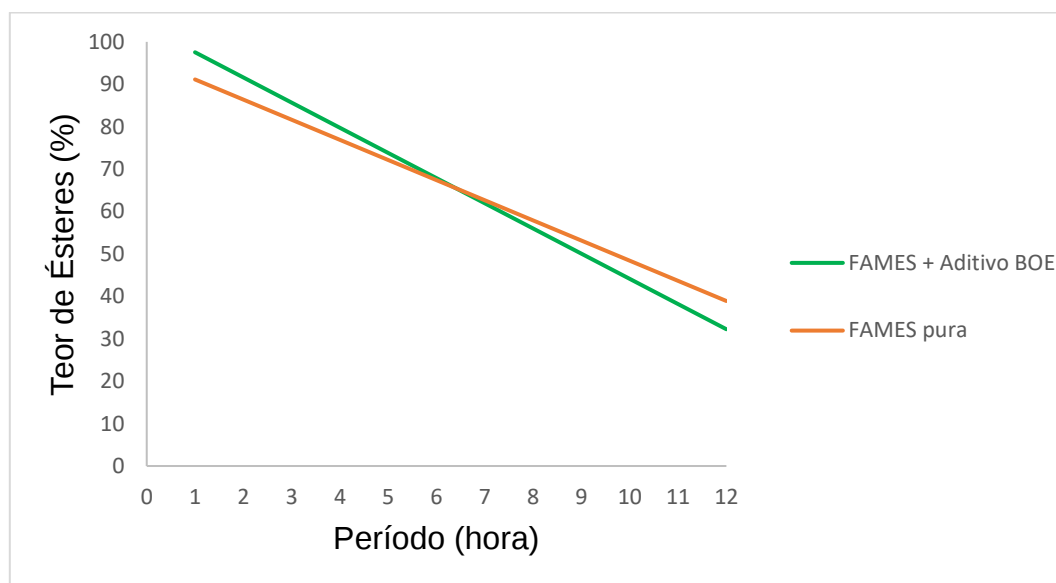
Essa comparação do teor de ésteres com o período de indução como forma de análise de estabilidade oxidativa, pode ser realizada na comparação da estabilidade oxidativa, em contrapartida, os resultados expressos por ambos devem ser comparados de acordo com sua respectiva norma regulamentadora, pois os parâmetros de determinação são diferentes. Enquanto o teor de ésteres quantifica a porcentagem de ésteres derivados dos ácidos graxos detectados pela ionização em chama através da cromatografia gasosa, o período de indução tem como forma de resposta a formação de íons durante a oxidação que resultam em um aumento da condutividade de um sistema. Em estudo de estabilidade oxidativa realizado por Juliane (2018), o biodiesel de soja em diferentes períodos de armazenamento apresentou um período de indução inicial de 3,68 e final de 3,47. Em relação ao teor de ésteres, a mesma amostra apresentou um teor inicial de 99,6% e final de 95,0%. Concluindo que apesar da proximidade do período de indução, o teor de ésteres reduziu abaixo do limite mínimo determinado [40].

Já o aditivo a base do bio-óleo com concentração de $5700 \mu\text{g g}^{-1}$ apresentou teores de ésteres abaixo dos teores da FAMES, demonstrando que não houve eficácia em sua utilização como antioxidante, ocasionando pontos de maior degradação dos ésteres do biocombustível, causando totalmente um efeito oposto ao desejado. Antioxidantes a base de bio-óleo já foram estudados e verificados que a concentração necessária para uma boa ação antioxidante deveria ser muito alta comparada à concentração de antioxidantes industriais. Isso acontece, pois na fração solúvel do bio-óleo existem diversos compostos além dos fenólicos, que não apresentam efeito antioxidante, necessitando-se de uma maior concentração para igual eficiência [12]. O que é explicado pela forma de obtenção do bio-óleo de esterco, composto essencialmente pela lignina. Em estudo realizado por Qazi *et al.* (2017), comprovou-se que a lignina obtida a partir da pirólise apresenta uma grande variação da atividade antioxidante, já que a

mesma apresenta compostos fenólicos, mas ainda assim é um composto com grande complexidade. Sua ação pró-oxidante também pode estar relacionada a essa complexidade de compostos presentes no bio-óleo, os quais em altas temperaturas podem formar radicais que auxiliem na degradação da FAMES. Uma solução para esse problema está na forma de extração desses compostos, como a realizada por Chandrasekaran *et al.* (2016) sobre o bio-óleo obtido da pirólise da madeira de bétula, onde se obteve eficácia na ação antioxidante ao biodiesel [30,49].

A figura 19 traz a curva para a comparação da tendência da oxidação de acordo com o decaimento do teor de ésteres da FAMES nas condições estudadas neste trabalho.

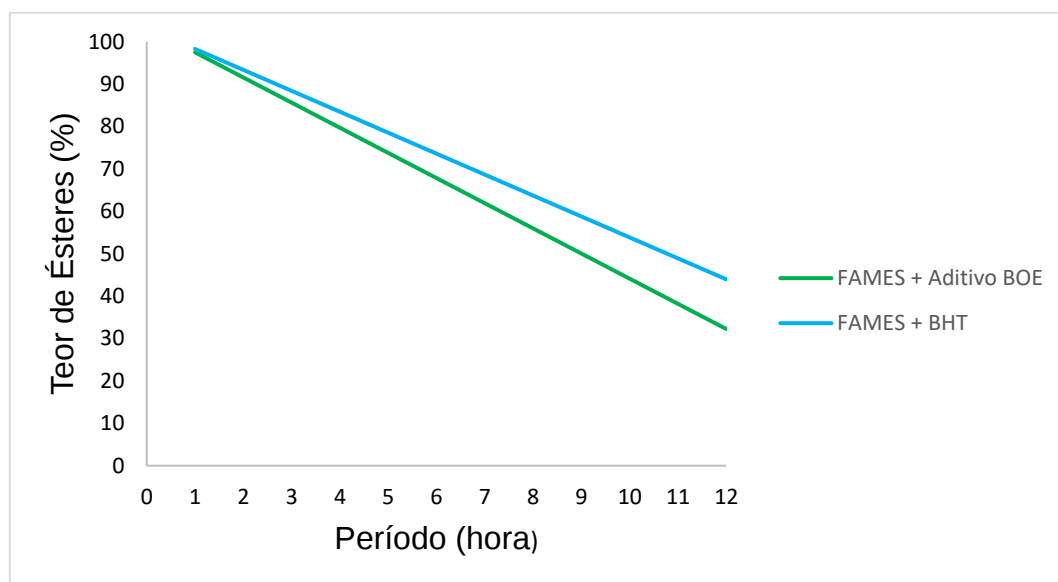
Figura 19. Curva de comparação do período de oxidação com relação ao teor de ésteres da FAMES pura e com aditivo BOE a $5700 \mu\text{g g}^{-1}$.



O aditivo BOE sustentou a oxidação da FAMES em até, aproximadamente, 6 horas de teste, e após esse período ele apresentou uma ação pró-oxidante. A concentração do aditivo influencia diretamente em seu efeito, mas não linearmente. Onde, a depender do tipo de antioxidante utilizado, o aumento de sua concentração pode apresentar um efeito contrário ao desejado. Oliveira (2012) realizou o teste do BHT como antioxidante em uma concentração de $5000 \mu\text{g g}^{-1}$ no biodiesel obtendo um ponto de indução abaixo do determinado pela ANP [57].

Comparando as ações do aditivo natural com o antioxidante industrial obtém-se as seguintes curvas demonstradas na figura 20.

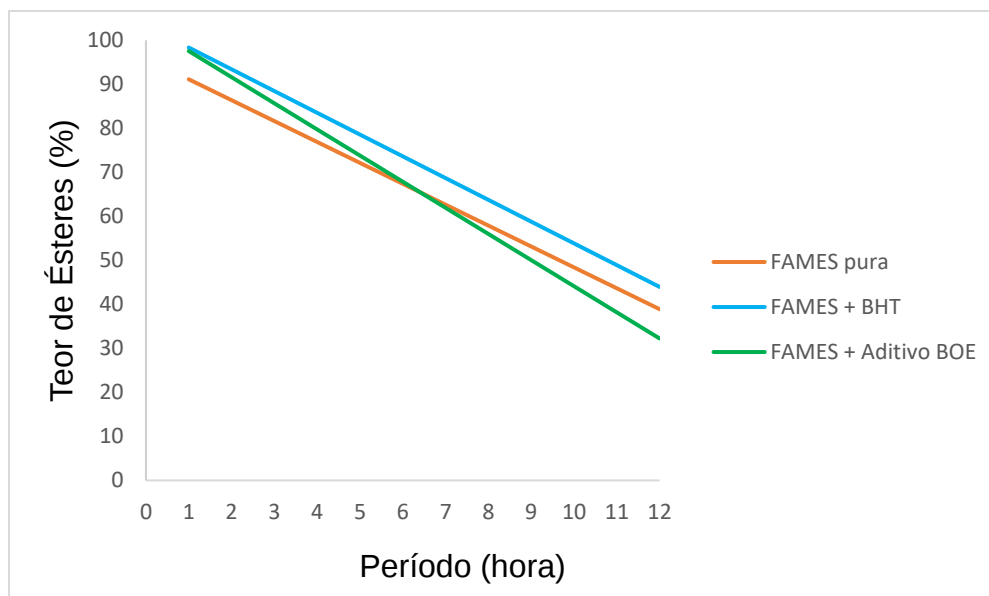
Figura 20. Curva de comparação da oxidação das FAMES aditivadas com concentrações de fenóis equivalentes.



O distanciamento das curvas indica a rápida degradação da FAMES com aditivo BOE em comparação ao com BHT, em que as primeiras horas de oxidação obtiveram um sustento maior, mas que não foi possível a ação durante o período final. Essa queda é justificada pela baixa concentração de compostos fenólicos que tiveram ação devido ao seu consumo no início do teste de estabilidade.

Para melhor visualização e comparação da ação do aditivo BOE em relação as amostras da FAMES pura e com aditivo industrial, foi construída a curva de tendência com ambas as amostras durante o decorrer da oxidação, a qual é verificada na figura 21.

Figura 21. Curva de comparação das amostras FAMES no teste de estabilidade oxidativa.



As curvas de tendência das amostras demonstram a clara eficiência do antioxidante industrial BHT. Em relação ao aditivo BOE, sua eficácia inicial é verificada pelo comportamento de sua curva próximo ao comportamento do BHT até um período de 3 horas. Ao atingir as 6 horas de oxidação, o aditivo BOE decaiu mais rapidamente apresentando maior degradação até em comparação com as FAMES pura, o que indica uma ação antioxidante inicial, mas uma perda da ação antioxidante no decorrer da oxidação.

4.6 Relação das áreas dos ésteres $C_{18:2}$ / $C_{18:1}$

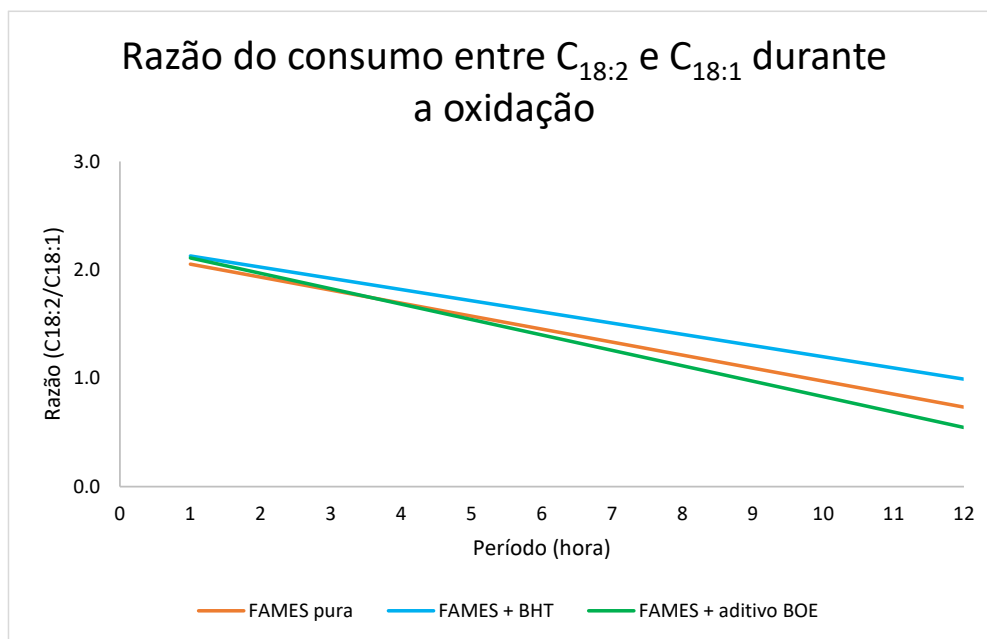
A comparação dos dois ésteres insaturados mais abundantes, através da área do pico obtida nas análises cromatográficas, permitiu o monitoramento da ação antioxidante, já que a área do éster $C_{18:2}$ em relação ao $C_{18:1}$ deve ser reduzida mais rapidamente devido ao seu maior grau de insaturação e da posição alílica de iniciação radicalar.

Tabela 10: Razão entre as áreas dos picos para os ésteres C_{18:2} / C_{18:1} durante o processo oxidativo.

Período (h)	FAMES	FAMES + BHT	FAMES + Aditivo
1	1,9422	1,9528	1,9631
2	1,9605	1,9657	1,9487
3	1,9331	1,9772	1,9668
4	1,8379	1,9314	1,8636
5	1,6210	1,9122	1,6447
6	1,3615	1,7447	1,3627
7	1,2589	1,4729	1,1921
8	1,0999	1,3032	0,9615
9	1,0173	1,1832	0,8431
10	0,9097	1,1455	0,8062
11	0,9070	1,0742	0,6675
12	0,8595	1,0520	0,7127

O resultado, apresentado na tabela 13, da razão entre os picos demonstra que a FAMES sem antioxidantes apresentou o menor valor, o que reflete em um maior consumo do C_{18:2}. A presença dos antioxidantes foi eficaz no controle da redução do C_{18:2} em relação ao C_{18:1}. O gráfico da figura 22 indica o efeito da presença antioxidante na razão entre os picos.

Figura 22: Curvas de comparação da razão do consumo dos ésteres $C_{18:2}$ e $C_{18:1}$ durante o teste de estabilidade oxidativa

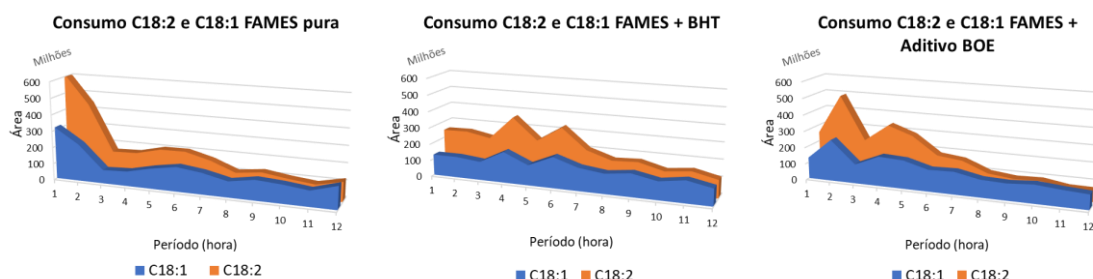


O comportamento das curvas indica um menor decaimento da curva da amostra na presença do BHT, sua curva não reduz abaixo da razão 1,0, o que demonstra que o éster $C_{18:2}$ sempre esteve com maior área em comparação ao $C_{18:1}$ confirmando que houve pouca oxidação devido a ação eficaz do aditivo industrial.

As amostras da FAMES pura e com aditivo BOE apresentaram ao final do teste de estabilidade razões menores que 1.0 o que confirma maior oxidação do $C_{18:2}$ a ponto de sua intensidade ser menor que a do $C_{18:1}$. O aditivo BOE obteve melhor ação antioxidante até um período de aproximadamente 3 horas, em comparação com a amostra pura. O consumo do $C_{18:2}$ em relação $C_{18:1}$ está de acordo com o teor de ésteres, em que o período inicial do aditivo foi o que obteve melhor atividade antioxidante.

A visualização do consumo do $C_{18:2}$ é importante no monitoramento para indicar o início da reação de oxidação dos ésteres insaturados e suas possíveis conversões em peróxidos e hidroperóxidos. A figura 23 traz o gráfico da relação do consumo desse éster com o $C_{18:1}$ em ambas as amostras.

Figura 23: Gráfico de área do consumo do C_{18:2} em relação ao C_{18:1}.



O período entre 3 e 12 horas é o principal na oxidação dos ésteres pela análise do gráfico. A FAMES sem antioxidantes apresentou maior redução na área do C_{18:2}, revelando maior degradação do éster. A reação se propagou ocorrendo a redução na área do C_{18:1}, confirmando também a sua oxidação. Nas amostras com antioxidante, a redução das áreas dos ésteres foi menor, indicando que houve pouco seguimento da oxidação. Em comparação com os períodos mencionados nas análises anteriores, o tempo de oxidação até 3 horas foi o que apresentou melhor ação antioxidante do aditivo BOE. O rápido decaimento da razão no início da oxidação é explicado também pelas altas condições de temperatura e fluxo de ar na oxidação.

4.7 Monitoramento dos produtos de oxidação por FT-Orbitrap MS das amostras aditivadas após o teste de estabilidade oxidativa.

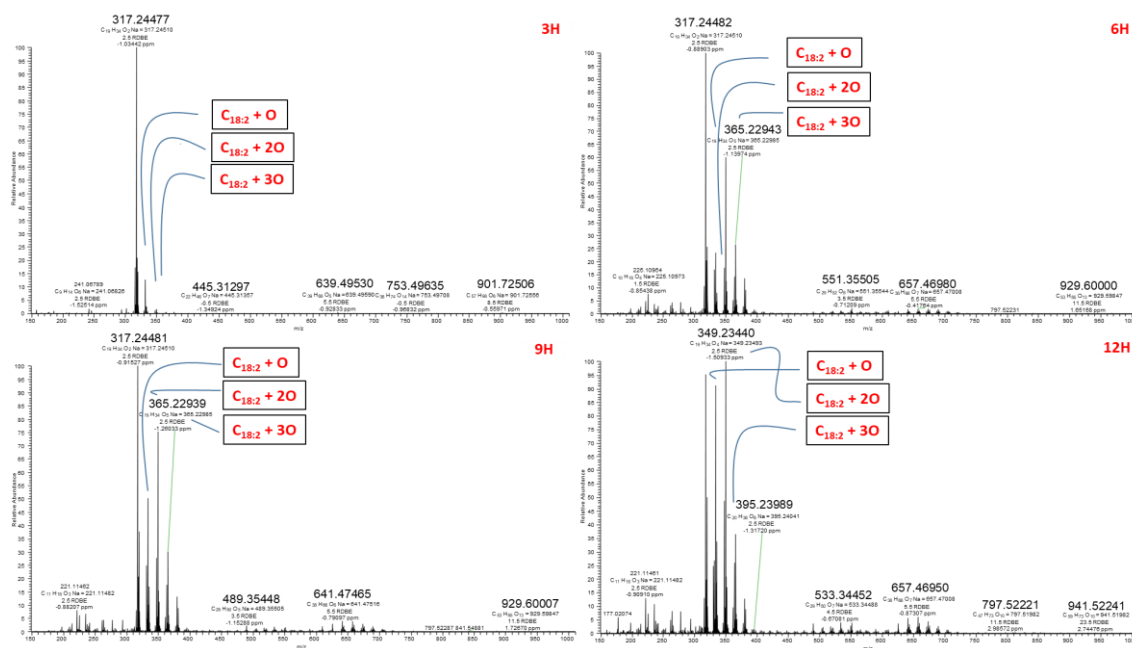
O efeito da oxidação do biodiesel é a formação de diversos compostos das classes dos peróxidos e hidroperóxidos, o que ocasiona uma redução nas cadeias insaturadas dos ésteres do biocombustível. O estudo por espectrometria de massas permitiu monitorar a ação antioxidante dos aditivos utilizados, através da identificação dos produtos resultantes da oxidação e avaliar o comportamento dos ésteres e compostos resultantes de suas degradações. Os íons das amostras analisadas foram obtidos em ESI no modo positivo, obtendo-se nos principais espectros da FAMES bruta e oxidadas o surgimento de picos diferentes na região entre m/z 300 e 400.

Para o monitoramento da oxidação foram realizadas análises de dos espectros das amostras oxidadas nos períodos de 3 horas, 6 horas, 9 horas e 12 horas.

4.7.1 Monitoramento dos produtos de oxidação no período de 3, 6, 9 e 12 horas para a FAMES pura.

A FAMES pura apresenta maior tendência de formação de peróxidos e hidroperóxidos por não ter sido avaliada na presença de antioxidantes, o que permite comparar com as amostras aditivadas, avaliando assim o comportamento desses compostos durante a oxidação. A figura 24 traz a oxidação da FAMES bruta no período de 3 horas.

Figura 24. Espectro da FAMES bruta oxidada em 3, 6, 9 e 12 horas.



Na região mencionada, o espectro demonstra a formação inicial do íon 349, que indica a formação do peróxido $[C_{18:2}+OO+Na]^+$, resultante da degradação do éster $C_{18:2}$, indicando que o estágio inicial de 3 horas já é suficiente para ocasionar a formação de peróxidos no principal éster metílico da FAMES.

Com um maior período de oxidação, é possível verificar o surgimento dos íons m/z 333 e 365, que indicam, respectivamente, a formação dos compostos

$[C_{18:2}+O+Na]^+$ e $[C_{18:2}+OOO+Na]^+$, pertencente a classe dos peróxidos. Além da formação desses compostos, o maior período de oxidação resultou em aumento da intensidade do íon 349 já identificado na oxidação em 3 horas. A formação desses compostos é resultante da oxidação decorrente do éster $C_{18:2}$, mais abundante e insaturado da FAMES do óleo de soja. Esses surgimentos é derivado da primeira etapa da oxidação [58].

Durante a oxidação em 9 horas, o espectro traz uma maior abundância relativa dos íons m/z 333, 349 e 365, provenientes da oxidação no éster $C_{18:2}$, em relação ao próprio íon. Essa característica indica que grande parte do éster está sendo degradado para a formação dos peróxidos.

Por fim, o espectro de 12 horas demonstrado na figura 25, traz uma maior abundância relativa dos compostos de oxidação formados em relação ao $C_{18:2}$, com destaque para a intensidade dos íons m/z 333 e 349.

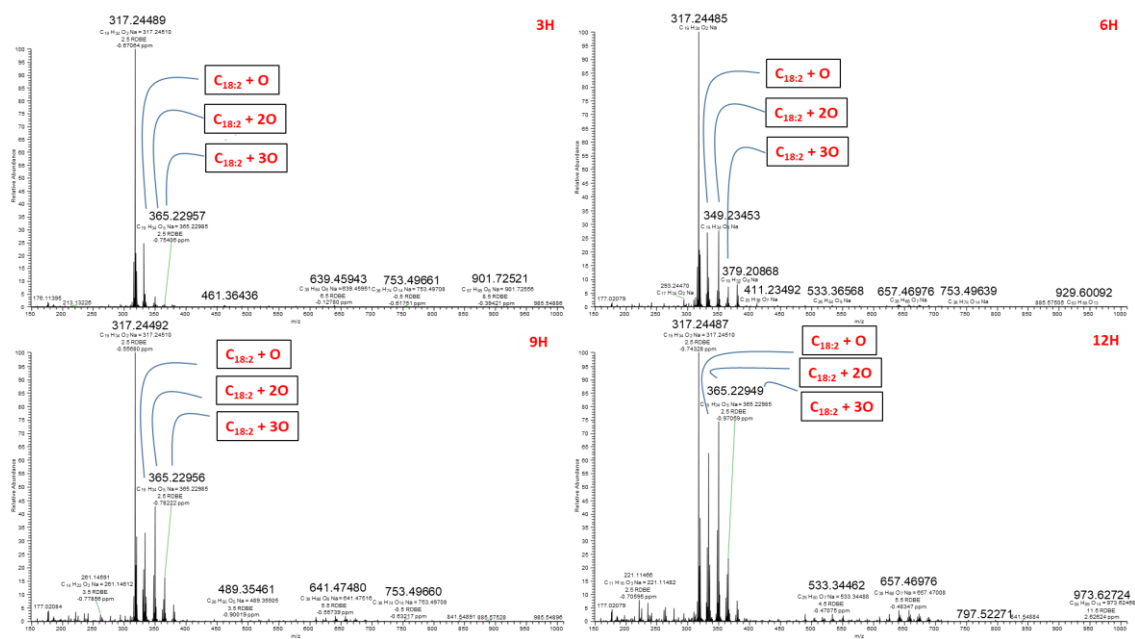
A figura 25 traz a comparação dos espectros das amostras oxidadas da FAMES bruta, com BHT e com o aditivo BOE, com foco na região entre m/z 300 e 400 para comparação das intensidades.

4.7.2 Monitoramento dos produtos de oxidação no período de 3, 6, 9 e 12 horas para a FAMES + BHT.

A amostra aditivada com o antioxidante industrial apresenta espectros com maior preservação dos íons do conteúdo FAME e menor abundância na formação dos compostos resultantes da oxidação, justificando sua eficiência.

A figura 25 traz os espectros do monitoramento da FAME na presença do BHT.

Figura 25. Espectro da FAMES + BHT oxidada em 3, 6, 9 e 12 horas.



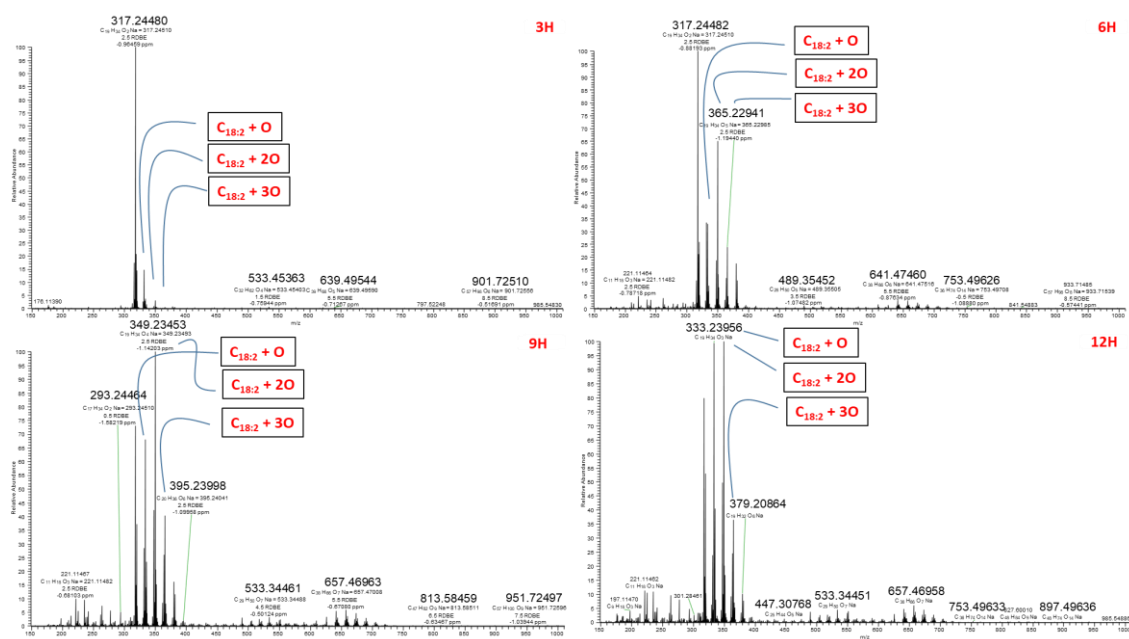
A região de m/z 300 a 400 trabalhada para a avaliação da oxidação se mostrou com menores formações de íons em comparação com a amostra de FAMES pura.

Durante o decorrer da oxidação, o aditivo BHT evitou maior uma maior formação dos íons m/z 333, 349 e 365, determinados na amostra FAMES bruta, onde estes apresentaram abundâncias relativas menores ao respectivo íon $C_{18:2}$, m/z 317, em comparação com a FAMES sem aditivo.

4.7.3 Monitoramento dos produtos de oxidação no período de 3, 6, 9 e 12 horas para a FAMES + Aditivo BOE.

Para as amostras na presença dos aditivos BOE, o monitoramento visa a redução na presença de compostos resultantes da oxidação em comparação com a amostra oxidada da FAMES bruta. A figura 26 demonstra o espectro da amostra de FAMES com aditivo BOE no período de 3 horas.

Figura 26. Espectro da FAMES + aditivo BOE oxidada em 3, 6, 9 e 12 horas.

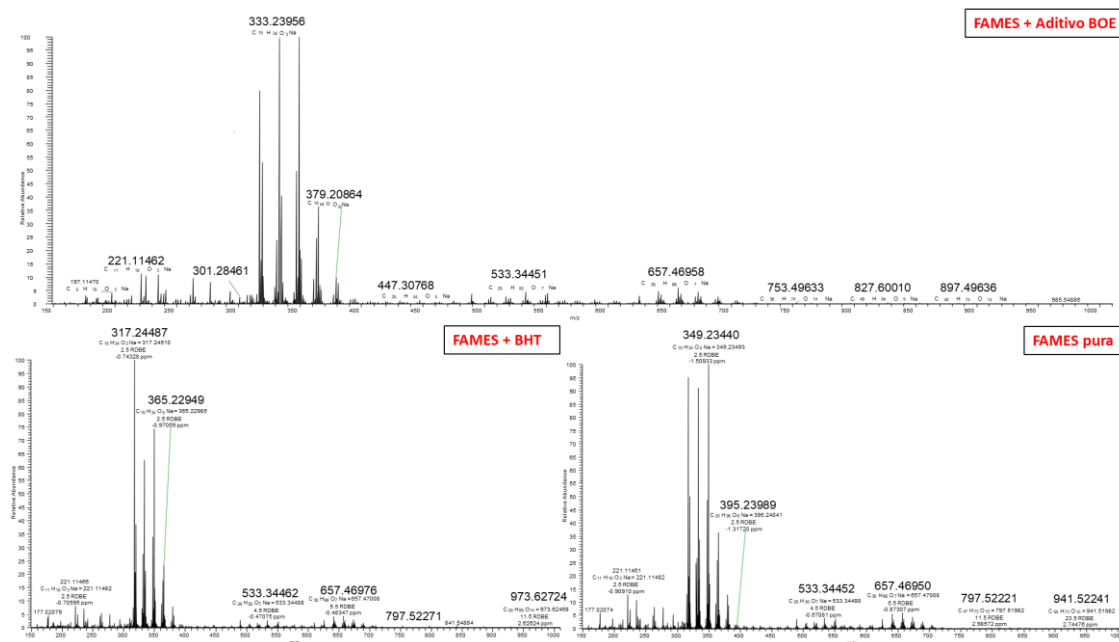


O espectro traz o estágio inicial da oxidação da FAMES na presença do aditivo BOE, indicando a formação do íon m/z 333, mas com baixa abundância relativa, apontando ação inicial do aditivo na amostra.

A oxidação no período de 6 horas apresentou aumento das abundâncias dos íons de oxidação, com destaque para o íon 349, indicando baixa eficiência do aditivo no controle da oxidação passadas 6 horas de teste de estabilidade oxidativa.

A região trabalhada no espectro da FAMES na presença do aditivo BOE em geral apresentou íons referentes aos compostos de oxidação em menores intensidades em comparação a FAMES pura até o período aproximado de 6 horas, concluindo que ocorreu menor degradação do conteúdo FAME no estágio inicial da oxidação. Contudo, nas 6 horas finais do teste de estabilidade oxidativa, o aditivo BOE apresentou ação pró-oxidante, em concordância com o teor de ésteres determinado anteriormente. Concluindo assim, que o conteúdo presente nesse tipo de aditivo pode contribuir para a formação de mais radicais livres no biodiesel devido complexidade de seus compostos presentes.

Figura 27: Comparação da região dos espectros das amostras FAMES oxidadas em 12 horas.



A imagem da região dos espectros, compara a formação dos produtos resultantes da oxidação da FAMES com aditivo BOE em relação as outras amostras. É possível verificar que a amostra com o aditivo apresentou maior susceptibilidade de formar o peróxido de m/z 333 em comparação com as outras amostras. Já a FAMES pura obteve maior intensidade no peróxido de m/z 349 ao final das 12 horas. Nessas duas amostras houve redução considerável do éster $C_{18:2}$ indicando sua conversão em peróxidos e hidroperóxidos.

4.7.4 Monitoramento dos produtos de oxidação na região de m/z 400 a 800

A região de m/z 400 a 800 é importante para a avaliação das amostras no teste de estabilidade oxidativa, pois ela é resultante da formação de variados compostos de oxidação, mas com intensidades menores comparados aos peróxidos e hidroperóxidos identificados na região m/z 300 a 350.

A comparação dos espectros das amostras de FAMES bruta, aditivada com BHT e aditivada com BOE seguem nas figuras 28, 29 e 30, respectivamente.

Figura 28: Comparação da região m/z 400 a 800 da FAMES bruta oxidada.

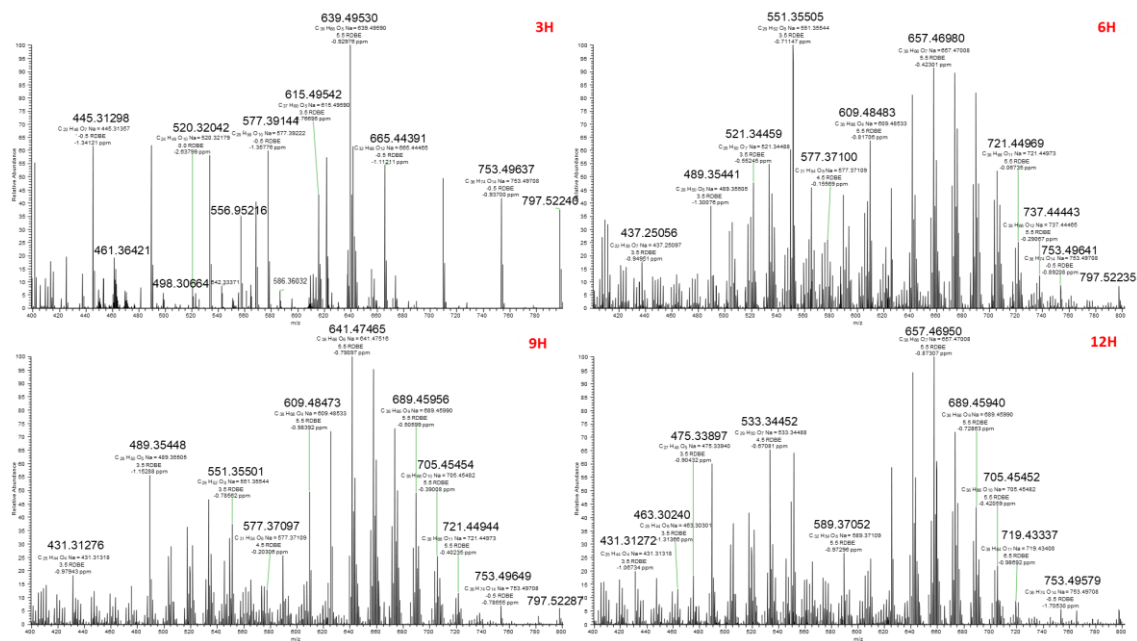


Figura 29: Comparação da região m/z 400 a 800 da FAMES + BHT oxidada.

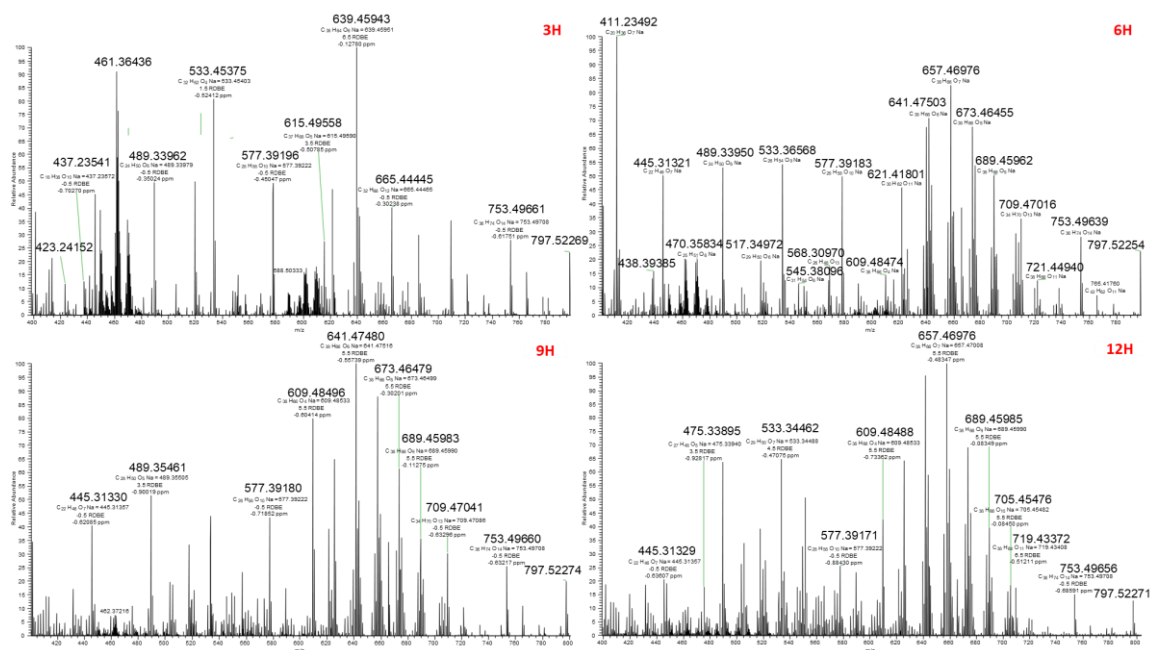
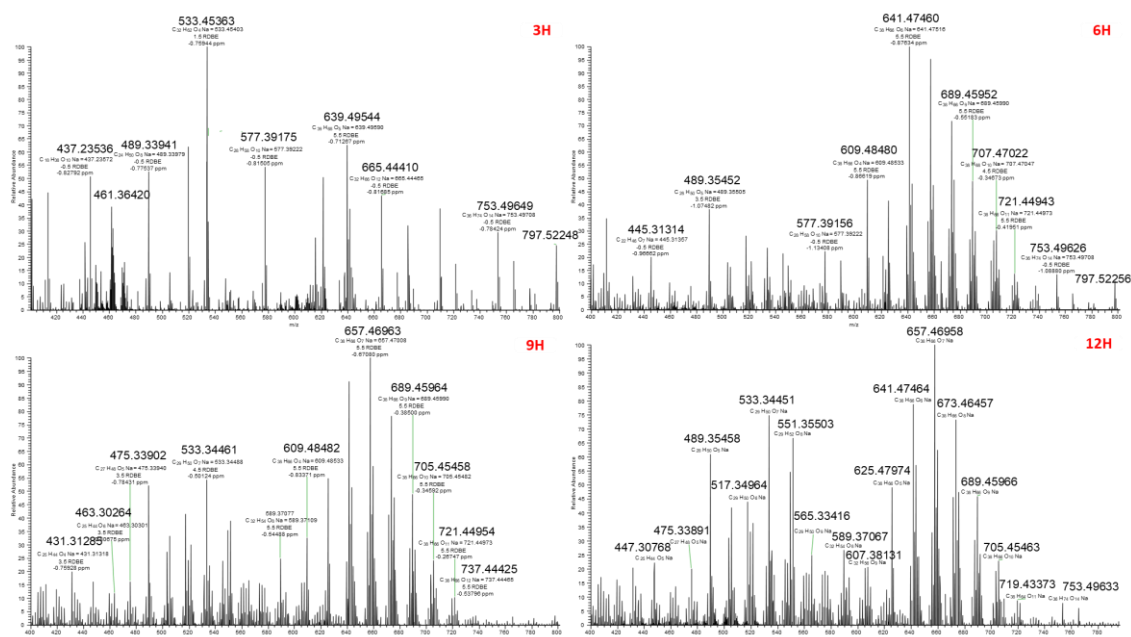


Figura 30: Comparação da região m/z 400 a 800 da FAMES + aditivo BOE oxidada.



Os espectros indicam pouca formação de compostos na região analisada no período de 3 horas, onde a amostra de FAMES bruta apresentou maior abundância de íons formados comparada as amostras aditivadas, sendo esse o período em que houve maior eficácia do aditivo BOE de acordo com as análises de GC-FID.

Durante toda oxidação nas 3 amostras, dímeros foram identificados na região estudada. Esses compostos são gerados a partir da condensação intermolecular decorrente da reação de radicais dos íons da FAMES no processo de oxidação. Melo (2022) identificou esses compostos na caracterização avançada de compostos oxidados na mistura de ésteres. Esses compostos se apresentam na forma $[C_{18:1}-C_{18:2}+Na]^+$, onde destaca-se a participação dos dois principais ésteres metílicos estudados na FAMES desse trabalho. Os dímeros identificados nesse trabalho foram os de m/z 625, 641, 657, 673 e 689, que corroboram com os determinados no trabalho de Melo (2022) [59]. Os dímeros foram identificados, com maior intensidade no período a partir de 6 horas de oxidação, o que indica que são compostos gerados após um nível avançado de oxidação.

4.8 Identificação dos produtos de oxidação

Foi realizada a identificação dos produtos de oxidação do éster C_{18:2} da FAMES estudada, resultando nos compostos relatados na tabela 14. A identificação é essencial para o reconhecimento do estágio da oxidação durante o período do

Tabela 11: Resultados da caracterização dos produtos de oxidação identificados para o éster C_{18:2}.

-	Peróxido	m/z	Intensidade	Int. relativa (%)	m/z teórica	Erro (ppm)	RDB	Fórmula molecular
FAMES 12 h	C _{18:2} + O	349,23440	128081712	7,5672	349,23493	-1,51	2,5	C ₁₉ H ₃₄ O ₃
	C _{18:2} + 2O	333,23951	113453592	6,7030	333,24002	-1,53	2,5	C ₁₉ H ₃₄ O ₄
	C _{18:2} + 3O	365,22933	47047336	2,7794	365,22985	-1,41	2,5	C ₁₉ H ₃₄ O ₅
	C _{18:2} + 4O	381,22421	10920464	0,6455	381,22476	-1,43	2,5	C ₁₉ H ₃₄ O ₆
	C _{18:2} + 5O	397,21914	1229834,5	0,0726	397,21967	-1,35	2,5	C ₁₉ H ₃₄ O ₇
	C _{18:2} + 6O	413,21406	141326,8	0,0083	413,21459	-1,28	2,5	C ₁₉ H ₃₄ O ₈
FAMES + BHT 12 h	C _{18:2} + O	333,23961	105560768	6,9939	333,24002	-1,18	2,5	C ₁₉ H ₃₄ O ₃
	C _{18:2} + 2O	349,23456	122096872	6,0467	349,23493	-0,89	2,5	C ₁₉ H ₃₄ O ₄
	C _{18:2} + 3O	365,22949	38589608	2,2105	365,22985	-0,98	2,5	C ₁₉ H ₃₄ O ₅
	C _{18:2} + 4O	381,20843	1427750,5	0,0818	381,22476	-1,00	2,5	C ₁₉ H ₃₄ O ₆
	C _{18:2} + 5O	397,21921	723487,9	0,0414	397,21967	-1,16	2,5	C ₁₉ H ₃₄ O ₇
	C _{18:2} + 6O	413,21420	31823,8	0,0018	413,21459	-0,95	2,5	C ₁₉ H ₃₄ O ₈
FAMES + BOE 12 h	C _{18:2} + O	333,23956	103676728	6,9028	333,24002	-1,37	2,5	C ₁₉ H ₃₄ O ₃
	C _{18:2} + 2O	349,23449	101788624	6,7771	349,23493	-1,26	2,5	C ₁₉ H ₃₄ O ₄
	C _{18:2} + 3O	365,22942	37200092	2,4768	365,22985	-1,17	2,5	C ₁₉ H ₃₄ O ₅
	C _{18:2} + 4O	381,22423	7919468,5	0,5273	381,22476	-1,38	2,5	C ₁₉ H ₃₄ O ₆
	C _{18:2} + 5O	397,21915	914510,6	0,0609	397,21967	-1,33	2,5	C ₁₉ H ₃₄ O ₇
	C _{18:2} + 6O	413,21405	91331,4	0,0061	413,21459	-1,30	2,5	C ₁₉ H ₃₄ O ₈

Os produtos de oxidação do éster $C_{18:2}$ identificados, diferenciam entre si de acordo com a quantidade de adição do oxigênio, resultando na formação dos peróxidos em destaque na tabela 14. Os resultados obtidos através do espectro permitiram caracterizar os produtos da oxidação com erros entre $-0,9$ e $-1,6$ ppm.

Em todas as amostras oxidadas foram encontrados os peróxidos resultantes da oxidação no éster de cadeia $C_{18:2}$, com variações em suas intensidades. As amostras da FAME na presença do BHT apresentaram menores intensidades o que indica melhor ação antioxidante do aditivo industrial. O aditivo BOE apresentou intensidades próximas as da amostra da FAMES pura nos íons dos peróxidos identificados o que é justificado pelo fato de que o aditivo é preparado com a própria amostra FAMES pura.

A amostra da FAMES pura apresentou as maiores intensidades relativas dos íons dos peróxidos em comparação com as amostras aditivadas indicando a existência de ação antioxidante nessas amostras aditivadas.

Para o éster oleato de metila, de cadeia graxa $C_{18:1}$, foram identificados os íons referentes a oxidação presentes na tabela 15.

Tabela 12: Resultados da caracterização dos produtos de oxidação identificados para o éster C_{18:1}.

-	Peróxido	m/z	Intensidade	Int. relativa (%)	m/z teórica	Erro (ppm)	RDB	Fórmula molecular
FAMES 12 h	C _{18:1} + O	335,25508	42250312	2,4964	335,25567	-1,76	1,5	C ₁₉ H ₃₆ O ₃
	C _{18:1} + 2O	351,24996	21051834	1,2440	351,25058	-1,77	1,5	C ₁₉ H ₃₆ O ₄
	C _{18:1} + 3O	367,24491	6473471,5	0,3821	367,24550	-1,59	1,5	C ₁₉ H ₃₆ O ₅
	C _{18:1} + 4O	383,23982	1985551,9	0,1173	383,24041	-1,55	1,5	C ₁₉ H ₃₆ O ₆
	C _{18:1} + 5O	399,23483	435527,3	0,0257	399,23532	-1,23	1,5	C ₁₉ H ₃₆ O ₇
	C _{18:1} + 6O	415,22976	20005,6	0,0015	415,23024	-1,16	1,5	C ₁₉ H ₃₆ O ₈
FAMES + BHT 12 h	C _{18:1} + O	335,25524	35121896	2,0118	335,25567	-1,26	1,5	C ₁₉ H ₃₆ O ₃
	C _{18:1} + 2O	351,25012	16617046	0,9518	351,25058	-1,22	1,5	C ₁₉ H ₃₆ O ₄
	C _{18:1} + 3O	367,24508	5030974,5	0,2882	367,24550	-1,11	1,5	C ₁₉ H ₃₆ O ₅
	C _{18:1} + 4O	383,23990	1370406,6	0,0785	383,24041	-1,14	1,5	C ₁₉ H ₃₆ O ₆
	C _{18:1} + 5O	399,23496	143253	0,0082	399,23532	-0,92	1,5	C ₁₉ H ₃₆ O ₇
	C _{18:1} + 6O	415,27885	52494,8	0,0030	415,23024	-1,04	1,5	C ₁₉ H ₃₆ O ₈
FAMES + BOE 12 h	C _{18:1} + O	335,25517	42055472	2,8000	335,25567	-1,48	1,5	C ₁₉ H ₃₆ O ₃
	C _{18:1} + 2O	351,25005	17601820	1,1719	351,25058	-1,51	1,5	C ₁₉ H ₃₆ O ₄
	C _{18:1} + 3O	367,24500	5545763,5	0,3692	367,24550	-1,35	1,5	C ₁₉ H ₃₆ O ₅
	C _{18:1} + 4O	383,23983	1503126,4	0,1001	383,24041	-1,51	1,5	C ₁₉ H ₃₆ O ₆
	C _{18:1} + 5O	399,23489	150474,5	0,0100	399,23532	-1,10	1,5	C ₁₉ H ₃₆ O ₇
	C _{18:1} + 6O	415,22959	5485,2	0,0004	415,23024	-1,55	1,5	C ₁₉ H ₃₆ O ₈

A tabela 15 indica a formação de dois tipos de peróxidos nas amostras estudadas. Como o C_{18:1} é menos susceptível a oxidação em comparação com o C_{18:2}, devido a sua cadeia menos insaturada, isso justifica as menores intensidades relativas dos íons dos produtos de oxidação. O antioxidante industrial apresentou menores intensidades nos produtos formados, justificando sua eficácia. Alguns peróxidos apresentaram maiores intensidades relativas na FAMES com o aditivo BOE em comparação com a FAMES pura o que também é explicado pela presença da FAMES pura no aditivo. Com isso, houve também uma proximidade nas formações dos produtos de oxidação dessas duas amostras. A intensidade relativa dos peróxidos formados no C_{18:1} das amostras é menor em comparação com os formados no C_{18:2} confirmando sua menor tendência a oxidação.

Com isso, é possível verificar que aditivo BOE apresentou uma ação antioxidante discretamente melhor no éster C_{18:2} em relação ao C_{18:1}, comparando-o com a FAMES pura. Como são de diferentes abundâncias, uma melhor extração dos fenóis presentes no bio-óleo pode induzir a uma maior ação antioxidante do aditivo nos ésteres de menores abundâncias.

5 CONCLUSÕES

Os resultados determinados no estudo comparativo do bio-óleo de esterco bovino como aditivo antioxidante para a FAMES, através dos espectros obtidos por FT-Orbitrap-MS e por GC-FID, indicam que esses não apresentaram eficiência comercial quando empregado na concentração equivalente a 1000 µg g⁻¹ do BHT, baseado no teor de fenóis. Sua capacidade antioxidante se mostrou eficiente durante o estágio inicial do teste de estabilidade oxidativa, que foi durante as 3 primeiras horas, mas apresentou ação pró-oxidante durante o período restante da oxidação, aproximadamente nas 6 horas finais. Uma solução contra essa ação indesejada do aditivo é basear sua equivalência em relação ao BHT de acordo com sua capacidade antioxidante, que é realizada pelo método DPPH.

A concentração do aditivo representa um fator de importante análise para sua eficácia, pois os compostos que agem contra a oxidação se encontram

diluídos, o que provou que pode ser necessária uma maior concentração frente a utilizada no trabalho. Mas o aumento da concentração do aditivo também reflete em um crescimento de todos os outros compostos presentes no bio-óleo, o que pressupõe que esses outros compostos ajam na degradação dos ésteres, possuindo assim ação contrária a desejada. Uma solução para a obtenção de uma melhor eficiência do bio-óleo como aditivo antioxidante é a realização de extração de seus compostos fenólicos, desejando-se a utilização de agentes extratores sustentáveis, como a água, por exemplo, reduzindo a utilização de solventes orgânicos.

6 PERSPECTIVAS DO TRABALHO

O trabalho apresenta boas perspectivas em diferentes frentes. A inserção de novos compostos antioxidantes para o biodiesel é necessária frente ao grande aumento na produção desse e de novos biocombustíveis. O aditivo antioxidante ganha um maior destaque quando se apresenta como uma solução sustentável, como é o caso do aditivo trabalhado em relação a antioxidantes industriais que já são muito utilizados hoje em dia. Com isso, a produção desse trabalho é de suma importância para que as necessidades industriais e tecnológicas que existem hoje sejam supridas. O trabalho também busca estimular novas fontes de aditivos naturais para uma maior inserção no mercado, além de propor novas formas de extrações mais sustentáveis, reduzindo a utilização de solventes orgânicos.

7 REFERÊNCIAS

- [1] A. C. Avci, O. Kaygusuz, and K. Kaygusuz, "Journal of Engineering Research and Applied Science Renewable energy is capable of meeting our energy needs," vol. 10, no. June, pp. 1741–1756, 2021.
- [2] N. Canha, P. Felizardo, and M. J. N. Correia, "Controlling the oxidative stability of biodiesel using oils or biodiesel blending or antioxidants addition," *Environ. Prog. Sustain. Energy*, vol. 37, no. 3, pp. 1031–1040, 2018, doi: 10.1002/ep.12778.

- [3] S. Vellaiyan and C. M. A. Partheeban, "Emission analysis of diesel engine fueled with soybean biodiesel and its water blends," *Energy Sources, Part A Recover. Util. Environ. Eff.*, vol. 40, no. 16, pp. 1956–1965, 2018, doi: 10.1080/15567036.2018.1489911.
- [4] ANP, "Anuário Estatístico Brasileiro," pp. 1–264, 2019, [Online]. Available: <http://www.anp.gov.br/arquivos/central-conteudos/anuario-estatistico/2019/2019-anuario-versao-impressao.pdf>.
- [5] P. Chen, Z. Wang, J. Wu, H. Xia, C. Tai, and R. Li, "Effects of phenolic antioxidants on biodiesel oxidative stability and emission," *Environ. Prog. Sustain. Energy*, vol. 38, no. 5, 2019, doi: 10.1002/ep.13203.
- [6] O. Özener, L. Yüksek, A. T. Ergenç, and M. Özkan, "Effects of soybean biodiesel on a DI diesel engine performance, emission and combustion characteristics," *Fuel*, vol. 115, pp. 875–883, 2014, doi: 10.1016/j.fuel.2012.10.081.
- [7] T. Shaafi and R. Velraj, "Influence of alumina nanoparticles, ethanol and isopropanol blend as additive with diesel-soybean biodiesel blend fuel: Combustion, engine performance and emissions," *Renew. Energy*, vol. 80, pp. 655–663, 2015, doi: 10.1016/j.renene.2015.02.042.
- [8] A. Devi, V. K. Das, and D. Deka, "Ginger extract as a nature based robust additive and its influence on the oxidation stability of biodiesel synthesized from non-edible oil," *Fuel*, vol. 187, pp. 306–314, 2017, doi: 10.1016/j.fuel.2016.09.063.
- [9] J. Pullen and K. Saeed, "An overview of biodiesel oxidation stability," *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 16, no. 8, pp. 5924–5950, 2012, doi: 10.1016/j.rser.2012.06.024.
- [10] I. M. Rizwanul Fattah *et al.*, "Effect of antioxidants on oxidation stability of biodiesel derived from vegetable and animal based feedstocks," *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 30, pp. 356–370, 2014, doi: 10.1016/j.rser.2013.10.026.
- [11] A. C. G. Mantovani, L. T. Chendynski, D. Galvan, F. C. de Macedo Júnior, D. Borsato, and E. Di Mauro, "Thermal-oxidation study of biodiesel by proton nuclear magnetic Resonance (1H NMR)," *Fuel*, vol. 274, no. April, p. 117833, 2020, doi: 10.1016/j.fuel.2020.117833.
- [12] M. García, L. Botella, N. Gil-Lalaguna, J. Arauzo, A. Gonzalo, and J. L.

- Sánchez, "Antioxidants for biodiesel: Additives prepared from extracted fractions of bio-oil," *Fuel Process. Technol.*, vol. 156, pp. 407–414, 2017, doi: 10.1016/j.fuproc.2016.10.001.
- [13] N. Kumar, "Oxidative stability of biodiesel: Causes, effects and prevention," *Fuel*, vol. 190, pp. 328–350, 2017, doi: 10.1016/j.fuel.2016.11.001.
- [14] S. Nogales-delgado, "Safflower Biodiesel: Improvement of its Oxidative," pp. 19–22, 2019.
- [15] A. Obadijah, R. Kannan, A. Ramasubbu, and S. V. Kumar, "Studies on the effect of antioxidants on the long-term storage and oxidation stability of Pongamia pinnata (L.) Pierre biodiesel," *Fuel Process. Technol.*, vol. 99, pp. 56–63, 2012, doi: 10.1016/j.fuproc.2012.01.032.
- [16] M. Shahabuddin, M. A. Kalam, H. H. Masjuki, M. M. K. Bhuiya, and M. Mofijur, "An experimental investigation into biodiesel stability by means of oxidation and property determination," *Energy*, vol. 44, no. 1, pp. 616–622, 2012, doi: 10.1016/j.energy.2012.05.032.
- [17] D. N. Thoai, S. Photaworn, A. Kumar, K. Prasertsit, and C. Tongurai, "A Novel Chemical Method for Determining Ester Content in Biodiesel," *Energy Procedia*, vol. 138, pp. 536–543, 2017, doi: 10.1016/j.egypro.2017.10.156.
- [18] G. D. Machado, M. Castier, A. P. Voll, V. F. Cabral, L. Cardozo-Filho, and D. A. G. Aranda, "Ethanol and methanol Unifac subgroup parameter estimation in the prediction of the liquid-liquid equilibrium of biodiesel systems," *Fluid Phase Equilib.*, vol. 488, pp. 79–86, 2019, doi: 10.1016/j.fluid.2019.01.012.
- [19] S. Kumar and V. Deswal, "Optimization at low temperature transesterification biodiesel production from soybean oil methanolysis via response surface methodology," *Energy Sources, Part A Recover. Util. Environ. Eff.*, vol. 0, no. 0, pp. 1–10, 2019, doi: 10.1080/15567036.2019.1649331.
- [20] L. Zhu, C. S. Cheung, and Z. Huang, "A comparison of particulate emission for rapeseed oil methyl ester, palm oil methyl ester and soybean oil methyl ester in perspective of their fatty ester composition," *Appl. Therm. Eng.*, vol. 94, pp. 249–255, 2016, doi: 10.1016/j.applthermaleng.2015.10.132.
- [21] D. E. A. De, "Diário oficial da união," pp. 2019–2020, 2020.

- [22] W. W. Focke, I. Van Der Westhuizen, and X. Oosthuysen, "Biodiesel oxidative stability from Rancimat data," *Thermochim. Acta*, vol. 633, pp. 116–121, 2016, doi: 10.1016/j.tca.2016.03.023.
- [23] W. O. Osawa, P. K. Sahoo, J. M. Onyari, and F. J. Mulaa, "Effects of antioxidants on oxidation and storage stability of Croton megalocarpus biodiesel," *Int. J. Energy Environ. Eng.*, vol. 7, no. 1, pp. 85–91, 2016, doi: 10.1007/s40095-015-0191-z.
- [24] G. Karavalakis, S. Stournas, and D. Karonis, "Evaluation of the oxidation stability of diesel/biodiesel blends," *Fuel*, vol. 89, no. 9, pp. 2483–2489, 2010, doi: 10.1016/j.fuel.2010.03.041.
- [25] S. Yudaev, E. Ivashkina, and V. Sapunov, "Study of the laws of oxidation of biodiesel," pp. 752–754, 2019.
- [26] C. A. Sagaste *et al.*, "Creosote bush (*larrea tridentata*) extract assessment as a green antioxidant for biodiesel," *Molecules*, vol. 24, no. 9, 2019, doi: 10.3390/molecules24091786.
- [27] F. D. Avila Orozco, A. C. Sousa, C. E. Domini, M. C. Ugulino Araujo, and B. S. Fernández Band, "An ultrasonic-accelerated oxidation method for determining the oxidative stability of biodiesel," *Ultrason. Sonochem.*, vol. 20, no. 3, pp. 820–825, 2013, doi: 10.1016/j.ultsonch.2012.10.012.
- [28] K. Varatharajan and D. S. Pushparani, "Screening of antioxidant additives for biodiesel fuels," *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 82, no. March 2017, pp. 2017–2028, 2018, doi: 10.1016/j.rser.2017.07.020.
- [29] G. M. Buosi, E. T. Da Silva, K. Spacino, L. R. C. Silva, B. A. D. Ferreira, and D. Borsato, "Oxidative stability of biodiesel from soybean oil: Comparison between synthetic and natural antioxidants," *Fuel*, vol. 181, pp. 759–764, 2016, doi: 10.1016/j.fuel.2016.05.056.
- [30] G. Knothe, "Some aspects of biodiesel oxidative stability," *Fuel Process. Technol.*, vol. 88, no. 7, pp. 669–677, 2007, doi: 10.1016/j.fuproc.2007.01.005.
- [31] C. Dueso *et al.*, "Performance and emissions of a diesel engine using sunflower biodiesel with a renewable antioxidant additive from bio-oil," *Fuel*, vol. 234, pp. 276–285, Dec. 2018, doi: 10.1016/j.fuel.2018.07.013.
- [32] S. S. Qazi, D. Li, C. Briens, F. Berruti, and M. M. Abou-Zaid, "Antioxidant activity of the lignins derived from fluidized-bed fast pyrolysis," *Molecules*,

- vol. 22, no. 3, pp. 1–14, 2017, doi: 10.3390/molecules22030372.
- [33] K. V. R. Santana, F. C. S. O. Apolônio, and A. Wisniewski, “Valorization of cattle manure by thermoconversion process in a rotary kiln reactor to produce environmentally friendly products,” *Bioenergy Res.*, vol. 13, no. 2, pp. 605–617, 2020, doi: 10.1007/s12155-019-10047-0.
- [34] M. Staš, J. Chudoba, D. Kubička, J. Blažek, and M. Pospíšil, “Petroleomic Characterization of Pyrolysis Bio-oils: A Review,” *Energy and Fuels*, vol. 31, no. 10, pp. 10283–10299, 2017, doi: 10.1021/acs.energyfuels.7b00826.
- [35] S. Xiu, A. Shahbazi, V. Shirley, and D. Cheng, “Hydrothermal pyrolysis of swine manure to bio-oil: Effects of operating parameters on products yield and characterization of bio-oil,” *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, vol. 88, no. 1, pp. 73–79, May 2010, doi: 10.1016/j.jaap.2010.02.011.
- [36] W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, and C. Berset, “Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity,” *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 28, no. 1, pp. 25–30, 1995, doi: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5.
- [37] J. Lazzarotto-Figueiró *et al.*, “Antioxidant activity, antibacterial and inhibitory effect of intestinal disaccharidases of extracts obtained from eugenia uniflora L. Seeds,” *Brazilian J. Biol.*, 2021, doi: 10.1590/1519-6984.224852.
- [38] S. M. Savatović, G. S. Četković, J. M. Čanadanović-Brunet, and S. M. Djilas, “Kinetic behaviour of the DPPH radical-scavenging activity of tomato waste extracts,” *J. Serbian Chem. Soc.*, 2012, doi: 10.2298/JSC120410065S.
- [39] L. A. Sobrado, L. Freije-carrelo, M. Moldovan, J. R. Encinar, and J. I. G. Alonso, “Comparison of gas chromatography-combustion-mass spectrometry and gas chromatography-flame ionization detector for the determination of fatty acid methyl esters in biodiesel without specific standards,” *J. Chromatogr. A*, vol. 1457, pp. 134–143, 2016, doi: 10.1016/j.chroma.2016.06.033.
- [40] M. J. Suota *et al.*, “Avaliação de características de biodieseis de fontes alternativas submetidos a condições de armazenagem diferenciada,” *Quim. Nova*, vol. 41, no. 6, pp. 648–655, Mar. 2018, doi: 10.21577/0100-4042.20170222.

- [41] Z. Wu, R. P. Rodgers, and A. G. Marshall, "Characterization of vegetable oils: detailed compositional fingerprints derived from electrospray ionization fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry.," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 52, no. 17, pp. 5322–5328, Aug. 2004, doi: 10.1021/jf049596q.
- [42] J. K. Kim *et al.*, "Effect of accelerated high temperature on oxidation and polymerization of biodiesel from vegetable oils," *Energies*, vol. 11, no. 12, pp. 1–11, 2018, doi: 10.3390/en11123514.
- [43] E. M. SCHMIDT, "Espectrometria de massas por FT-ICR e Orbitrap: química forense, análise de petróleo e seus derivados," Universidade Estadual de Campinas, 2015.
- [44] K. De Moraes, "Estabilidade à oxidação do biodiesel de soja com adição do antioxidante do resíduo da indústria cervejeira," pp. 39–63.
- [45] Y. L. Machado, M. C. Aragão, F. M. T. Luna, M. A. S. Rios, and C. L. Cavalcante, "Accelerated oxidation of fresh and stored biodiesel samples obtained from castor and soybean oils using the petrooxy method," *Biofuels*, vol. 0, no. 0, pp. 1–5, 2018, doi: 10.1080/17597269.2018.1506632.
- [46] K. V. R. SANTANA, "Conversão termoquímica de esterco bovino em micro e macroescala com vistas a obtenção de biocombustíveis e produtos da química fina," Universidade Federal de Sergipe, 2017.
- [47] M. Bonoli, V. Verardo, E. Marconi, and M. F. Caboni, "Antioxidant phenols in barley (*Hordeum vulgare* L.) flour: Comparative spectrophotometric study among extraction methods of free and bound phenolic compounds," *J. Agric. Food Chem.*, 2004, doi: 10.1021/jf040075c.
- [48] C. D. Calixto, "Óleo De Quiabo Como Fonte Alternativa Para Produção De Biodiesel E Avaliação De Antioxidantes Naturais Em Biodiesel Etílico De Soja," p. 103, 2011.
- [49] N. V. Hung *et al.*, "Development of two-dimensional gas chromatography (GC×GC) coupled with Orbitrap-technology-based mass spectrometry: Interest in the identification of biofuel composition," *J. Mass Spectrom.*, vol. 55, no. 3, 2020, doi: 10.1002/jms.4495.
- [50] P. V. Abdelnur *et al.*, "Blends of soybean biodiesel with petrodiesel: Direct Quantitation via mass spectrometry," *J. Braz. Chem. Soc.*, vol. 24, no. 6,

- pp. 946–952, 2013, doi: 10.5935/0103-5053.20130120.
- [51] L. S. Eberlin *et al.*, “Analysis of biodiesel and biodiesel-petrodiesel blends by high performance thin layer chromatography combined with easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry,” *Analyst*, vol. 134, no. 8, pp. 1652–1657, 2009, doi: 10.1039/b817847j.
 - [52] E. A. Smith, S. Park, A. T. Klein, and Y. J. Lee, “Bio-oil analysis using negative electrospray ionization: Comparative study of high-resolution mass spectrometers and phenolic versus sugarc components,” *Energy and Fuels*, vol. 26, no. 6, pp. 3796–3802, 2012, doi: 10.1021/ef3003558.
 - [53] M. Staš *et al.*, “Application of orbitrap mass spectrometry for analysis of model bio-oil compounds and fast pyrolysis bio-oils from different biomass sources,” *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, vol. 124, pp. 230–238, 2017, doi: 10.1016/j.jaap.2017.02.002.
 - [54] J. C. Ball, J. E. Anderson, V. A. Sears, and T. J. Wallington, “Model Reactions Involving Ester Functional Groups during Thermo-Oxidative Degradation of Biodiesel,” *JAOCS, J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 96, no. 10, pp. 1153–1161, 2019, doi: 10.1002/aocs.12277.
 - [55] A. Von Gadow, E. Joubert, and C. F. Hansmann, “Comparison of the antioxidant activity of rooibos tea (*Aspalathus linearis*) with green, oolong and black tea,” *Food Chem.*, vol. 60, no. 1, pp. 73–77, 1997, doi: 10.1016/S0308-8146(96)00312-3.
 - [56] S. R. Chandrasekaran *et al.*, “Antioxidants from Slow Pyrolysis Bio-Oil of Birch Wood: Application for Biodiesel and Biobased Lubricants,” *ACS Sustain. Chem. Eng.*, vol. 4, no. 3, pp. 1414–1421, 2016, doi: 10.1021/acssuschemeng.5b01302.
 - [57] R. S. Oliveira, “Avaliação da ação antioxidante de produtos naturais no biodiesel B100,” vol. 66, pp. 37–39, 2012.
 - [58] A. T. Godoy, “Monitoramento dos produtos de oxidação do biodiesel por espectrometria de massas ambiente com ionização sonic-spray (easi-ms),” *Unicamp*, no. Programa de pós graduação em química, p. 140, 2013.
 - [59] J. A. Melo, L. A. de A. Silva, J. M. Santos, and A. Wisniewski, “Advanced characterization of oxidized derivatives in alternative fatty esters mixture for biodiesel purposes,” *Fuel*, vol. 309, no. September 2021, 2022, doi: 10.1016/j.fuel.2021.122109.